REVISTA

ESPAMCIENCIA

para el agro

Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López

ISSN-e: 1390-8103

VOLUMEN

11

N°2

JUNIO-DICIEMBRE 2020

humanis EDITORIAL

latindex BASE REDIB Red Iberoamericana DOAJ MIAR PERIÓDICA OAJI.net Dialnet

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

CAPACIDAD FOTOSINTÉTICA DE 15 CLONES DE CAFÉ ROBUSTA (*Coffea canephora*) EN ESMERALDAS, ECUADOR

PHOTOSYNTHETIC CAPACITY OF 15 CLONES OF ROBUST COFFEE (*Coffea canephora*) IN ESMERALDAS, ECUADOR

Wilmer Tezara Fernández[1,2], Patricia Jacqueline Mendoza Cortez[1], Walter Daniel Loyaga Guerrero[1], Víctor Hugo Reynel Chila[1], Milton José Bolaños Ortega[1]

[1]Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica Luis Vargas Torres, Estación Experimental Mutile, Esmeraldas, Ecuador
[2]Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. 47114 Caracas 1041 A, Venezuela

Email: wilmer.tezara@ciens.ucv.ve

Información del artículo

Tipo de artículo: Artículo original

Recibido: 05/05/2020

Aceptado: 14/11/2020

Licencia: CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA 11(2):57-67

DOI: https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.206

Resumen

Con el fin de obtener información de la capacidad fotosintética de café robusta (*Coffea canephora*), se evaluó la tasa de fotosíntesis (A), transpiración (E), conductancia estomática (g_s), concentración intercelular de CO_2 (C_i) y eficiencia de uso de agua (EUA= A/E) de 15 diferentes clones de café. Se cuantificó la respuesta de la fotosíntesis a la densidad de flujo fotónico (A/DFF) y a la C_i (A/C_i) de 6 clones: SICA 1, 2, 3, 4, Conilón 1 y ECU ROBUSTA 01 cultivados en un umbráculo, en un diseño estadístico completamente aleatorizado en el Jardín Botánico de la Estación Experimental Mutile. Las plántulas de café se regaron cada tres días y fertilizaron durante el experimento para mantener las plantas con vigor, garantizando el buen desempeño fisiológico. Se encontraron diferencias significativas entre los clones estudiados en el intercambio gaseoso: la A varió entre 9,5 y 15 µmol m^{-2} s^{-1}, la g_s entre 198 y 375 mmol m^{-2} s^{-1} y la EUA varió entre 2,6 y 5,8 mmol CO_2 mol H_2O^{-1}. Los clones (ECU ROBUSTA 01, Conilón 1 y Conilón 2) mostraron las mayores A y EUA. Se observaron diferencias significativas en las curvas A/DFF y A/C_i entre los clones ECU ROBUSTA 01, Conilón 1 y SICA. En conclusión, se encontraron diferencias significativas entre clones de café robusta estudiados, siendo los clones ECU ROBUSTA 01, Conilón 1 y SICA 1, los que podrían tener una mayor productividad, en Esmeraldas, en función de su mayor capacidad fotosintética.

Palabras clave: Conilón, intercambio gaseoso, eficiencia de uso de agua, fotosíntesis, concentración intercelular de CO_2.

Abstract

The objective of this study was to evaluate 15 different coffee clones to obtain information on the photosynthetic capacity of robusta coffee (*Coffea canephora*), photosynthesis rate (A), transpiration (E), stomatal conductance (g_s), intercellular CO_2 concentration (C_i) and water use efficiency (WUE= A/E). We quantified the response of photosynthesis to photon flux density (A/PFD) and C_i (A/C_i) of 6 clones: SICA 1, 2, 3, 4, Conilon 1 and ECU ROBUSTA 01 grown in an umbraculum, using a completely randomized statistical design at the Botanical Garden of the Mutile Experimental Station. The coffee seedlings were watered every three days and fertilized during the experiment to keep the plants vigorous for good physiological performance. Significant differences were found among the clones studied in the gas exchange: *A* values varied between 9.5 and 15 µmol m^{-2} s^{-1}; g_s between 198 and 375 mmol m^{-2} s^{-1} and the WUE varied between 2.6 and 5.8 mmol CO_2 mol H_2O^{-1}. The clones (ECU ROBUSTA 01, Conilon 1 and Conilon 2) showed the largest A and WUE values. Significant differences were observed in the A/PFD and A/C_i curves among the ECU ROBUSTA 01, Conilon 1 and SICA clones. In conclusion, significant differences were found between robusta coffee clones studied, being the clones ECU ROBUSTA 01, Conilón 1 and SICA 1, which could show a higher productivity, in Esmeraldas, based on their greater photosynthetic capacity.

Keywords: Conilon, gas exchange, water use efficiency, photosynthesis, intercellular CO_2 concentration.

INTRODUCCIÓN

El café, es consumido por aproximadamente un tercio de la población mundial y es uno de los productos agrícolas más comercializados en el mundo. De las 100 especies del género *Coffea* (Eskes, 1989a), sólo *Coffea arábica* L. (café arábico) y *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (café robusta) son económicamente importantes; produciéndose el 63% de arábica y el 37% de robusta (Fassio y Silva, 2007; ICO, 2016).

El café se cultiva en aproximadamente 80 países tropicales y constituye la base económica. Además, se estima que alrededor de 25 millones de familias de agricultores en todo el mundo producen café, con una mayoría de pequeños productores y familias cuyos medios de vida dependen en gran medida de este cultivo (DaMatta *et al*., 2019).

Después del petróleo, el café es el producto comercial más valioso en todo el mundo, con ventas mundiales estimadas en 90 billones de dólares (ICO, 2016). La producción mundial de café para los años 2017-2018 fue entre 160 y 172 millones de sacos de 60 Kg, por año (ICO, 2020). En el Ecuador, el café constituye un producto de gran importancia social, económica y ambiental (COFENAC, 2013; Duicela, 1993, 2017a) y su producción durante el 2017-2018 fue de 645 000 y 601 000 sacos, respectivamente, con un porcentaje de cambio para estos años de -3,6% (ICO, 2020a).

El café se produce en 20 de las 22 provincias del Ecuador según la Asociación Nacional de Exportadores de Café. La producción de arábigo, se concentra específicamente en Manabí, Loja y las estribaciones de la Cordillera Occidental de los Andes, en tanto que el robusta se cultiva en la Amazonía (Sucumbíos y Orellana), en su mayor porcentaje.

Las principales causas de la baja producción de café en el Ecuador (7 qq $ha^{-1}.año^{-1}$) son: baja productividad de las variedades (200 $kg.ha^{-1}$), reducción del área cultivada, prevalencia de cafetales viejos que no han sido renovados durante décadas, a la deficiencia técnica y mal manejo agronómico por parte de los pequeños productores (Duicela *et al*., 2016; Duicela, 2017a); todo esto ocasiona un déficit de cerca de 1.4 millones de sacos de café robusta generado por la alta demanda de la industria de café soluble en Ecuador que en la actualidad se encuentra importando café (PROECUADOR, 2013; Duicela, 2017a).

Desde el año 2007, la Compañía de Elaborados El Café, Gusnobe, Mercafé S.A. y Solubles Instantáneos, han realizado importación de café en grano proveniente de Vietnam, Brasil y otros países productores para suplir las necesidades de la industria nacional. Hasta septiembre del 2012, se reporta la importación de 68 079 toneladas de café en grano (Duicela *et al*., 2016).

El café es un cultivo leñoso tropical originario del norte de Etiopía, en el oriente de África. El café robusta se cultiva en África Central y Occidental, en todo el Sudeste de Asia y un poco en Brasil, donde se le conoce como "Conillón" (Rojo, 2014).

El cafeto es un arbusto que pertenece a la familia de las Rubiaceae, que puede alcanzar hasta 10 metros de altura en café robusta (ICO, 2020b). El arábigo (café de altura), produce mejor entre 1000 y 2000 msnm en un clima templado, con suelos ricos en nutrientes y precipitaciones estacionales y moderadas; por el contrario robusta, tienen una mayor productividad en altitudes inferiores a 1000 msnm, donde existen suelos pobres en nutrientes, en un clima caliente con abundantes precipitaciones, que promueven un frecuente reciclaje de materia orgánica.

El mejoramiento genético en cultivos de café ha sido orientado al incremento de la productividad (Duicela, 2017) y búsqueda de variedades, géneros, especies e híbridos de café con resistencia a las principales plagas y enfermedades (Eskes, 1989b), como son la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*), broca del café (*Hypothenemus hampei*) y otros problemas como los nematodos (*Meloidogyne* y *Pratylenchus* spp.), la mancha de hierro (*Cercospora coffeicola*) y antracnosis (*Colletotrichum coffeanum*).

En la Red Universitaria de Investigación de Café (REDUCAFÉ), se ha discutido que en el Ecuador el café robusta podría ser una alternativa positiva para incrementar la producción del café en el país dadas las características sensoriales excepcionales de este tipo de café en el Ecuador; y a la resistencia a enfermedades (Duicela, 2017b). Se ha reportado que algunos clones de café robusta en especial del tipo Conilón suelen tener mayor altura de planta, número de ramas y diámetro de tallo; además, de una buena productividad en comparación con los cultivares arábigo (Duicela *et al*., 2016; Duicela, 2017a).

En Brasil, existe mucha información fisiológica, en *C. arábica* y *C. canephora*: relaciones hídricas y tolerancia a la sequía (DaMatta y Rena, 2001, 2002; DaMatta y Ramalho, 2006), aclimatación fotosintética a la luz (DaMatta, 2004; Cavatte *et al*. 2012; Rodríguez-López *et al*., 2014), metabolismo del nitrógeno (Carelli *et al*., 2006), los impactos de temperaturas extremas y la sequía en la producción del café (DaMatta y Ramalho, 2006), efecto de elevadas concentraciones de CO_2 en la fisiología y producción del café (DaMatta *et al*., 2016, 2019; Martins *et al*., 2016; Rodrigues *et al*., 2016).

Tradicionalmente el café es considerado una especie de sombra, con bajo punto de saturación de luz (PSL) (Kumar y Tieszen, 1980; Fahl *et al.,* 1994), bajas tasas de fotosíntesis (A) a densidad de flujo fotónico saturante (A_{DFFsat}), y altas eficiencias cuánticas (Φ_{CO2}). En café se han reportado valores de A de 7 - 8 µmol m^{-2} s^{-1}, y conductancias estomáticas (g_s) entre 108-148 mmol m^{-2} s^{-1} (DaMatta *et al.,* 2007). Los bajos valores de A *in situ* se han asociado con altas limitaciones estomática y mesofilar, más que a las limitaciones bioquímicas (DaMatta *et al.,* 2001; DaMatta, 2003; Cavatte *et al.,* 2008).

En la provincia de Esmeraldas, Ecuador, se ha reportado que la A varió entre 9,5 y 15,1 µmol m^{-2} s^{-1} y g_s entre 198,3 y 411,8 mmol m^{-2} s^{-1}, en diferentes cultivares de café arábigo (Loyaga, 2017; Tezara *et al.,* 2018). Además, se ha logrado una caracterización morfológica y productiva de accesiones de café robusta de diferentes orígenes (Duicela *et al.,* 2016), y existe una amplia información de producción y poscosecha (Duicela, 2017), sin mencionarse aspectos fisiológicos.

En Ecuador, los programas de mejoramiento, carecen de información ecofisiológica; estas evaluaciones son indispensables para entender las respuestas de aclimatación del café a las diferentes condiciones ambientales (Tezara, 2017). Existe desconocimiento de muchos procesos fisiológicos en café ecuatoriano y es escasa la información de la actividad fotosintética (Tezara *et al.,* 2018), por tanto conocer la respuesta de la capacidad fotosintética del café a variables ambientales tales como: luz, CO_2 y H_2O; esto permitió seleccionar los clones más eficientes en el uso de recursos, lo cual será de gran utilidad frente al eminente cambio climático.

Los objetivos del estudio fueron: 1. Evaluar el intercambio gaseoso de 15 clones de café robusta, 2. Cuantificar la respuesta fotosintética de seis clones de café robusta en relación a la densidad de flujo fotónico (DFF) y 3. Cuantificar la respuesta fotosintética de seis clones café robusta en función de la concentración intercelular de CO_2 (C_i). Esta investigación permitió conocer información fisiológica importante en relación a la eficiencia del uso de recursos y verificar si existe una alta variabilidad fisiológica en los clones de café robusta en Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y material vegetal

El estudio se realizó en un vivero, con techo de sarán de 75% ubicado en el Jardín Botánico de la Estación Experimental Mutile, de la Universidad Técnica Luis Vargas Torres de Esmeraldas. Se cultivaron plántulas (90 plantas de 15 diferentes clones) de 10 meses de edad de café robusta (Cuadro 1) en fundas de 20 libras, en tierra abonada; las plantas fueron irrigadas cada tres días y fertilizadas con un nutriente completo (20:20:20). Una vez que las plantas estuvieron adaptadas por un mes a las condiciones microclimáticas del vivero, se iniciaron las medidas fisiológicas.

Cuadro 1. Código de los 15 clones de café robusta evaluados y vivero de procedencia

Clones	Viverista	Ubicación
NP-3056 P10 NP-2024 P1 COF-01	Noteno Francisco	Estrella Yacu, Orellana
COF-06 COF-02	Baker Nicolás	Cerecita, vía a la Costa
LG-S-02 LG-S-01 SICA 1	Gavidia Luis	Sevilla de Oro, Sucumbíos
SICA 2 SICA 3 SICA 4 SICA 5 Conilón 2 ECU ROBUSTA 01 Conilón 1	UEB	Caluma, Bolívar

Caracterización microclimática

Todas las determinaciones microclimáticas se realizaron a intervalos de una hora, de 8:00 -17:00, dentro y fuera del vivero; en siete diferentes días de muestreos. La densidad de flujo fotónico (DFF) se midió con un LI-COR LI-250A (Light Meter, USA). Se midió la temperatura del aire (T_a), humedad relativa (HR) y la concentración de CO_2 ambiental (C_a) mediante el uso de un CO_2METER.COM (China).

Condiciones edafoclimáticas de la zona de muestreo

En la zona de estudio la precipitación promedio anual es de 1030 mm; la temperatura promedio de 24°C, humedad relativa promedio 85% y una heliofanía de 1200 horas/sol/año. Información obtenida del Instituto Oceanográfico de la Armada, Ecuador, ubicada en el puerto de Esmeraldas (INOCAR, 2012).

Mediciones instantáneas de intercambio de gases

Las mediciones de tasas de fotosíntesis (A), transpiración (E), conductancia estomática (g_s), concentración intercelular de CO_2 (C_i), y eficiencia de uso de agua instantáneas (EUA= A/E) fueron realizadas usando un analizador infrarrojo de gases portátil (CIRAS 2, PP Systems Hitchin, UK) unido una cámara de asimilación (PLC). Todas las medidas se realizaron bajo las

siguientes condiciones: DFF (1200 ± 20 μmol m^{-2} s^{-1}), temperatura foliar (T_f) de 30 ± 0.5 °C, 400 ± 10 μmol mol^{-1} de CO_2, 21% de O_2, y un déficit de presión de vapor de agua entre la hoja-atmósfera (DPV) de 18 - 25 mbares.

Todas las mediciones se realizaron en hojas adultas completamente expandidas y sanas (tercera hoja a partir del ápice), de 5 diferentes plantas por clon (n = 5). Las evaluaciones se realizaron durante 2 meses (18 junio, 25, 31 julio y 16 agosto).

Curvas A *vs* DFF

Se realizaron curvas de A en función de DFF (A *vs* DFF) en hojas de 4 diferentes plantas (n = 4) en 6 diferentes clones (SICA 1, 2, 3, 4, ECU ROBUSTA 01 Y Conilón 1), estos clones de robusta fueron seleccionados por presentar las mayores A y EUA.

Las curvas A *vs* DFF, se realizaron con un CIRAS-2, variando la DFF desde 0 hasta 2000 µmol m^{-2} s^{-1} en ocho pasos sucesivos. Las medidas se realizaron en hojas adultas bien expandidas, bajo las siguientes condiciones: T_f de 30 ± 1 °C, 400 ± 10 μmol mol^{-1} de CO_2, 21% de O_2, y un DPV de 20 mbares.

Las curvas se ajustaron con una ecuación empírica:

$$A = b + d * \exp^{k*DFF} \quad \textbf{(1)}$$

(Tezara *et al*., 1998)

Donde, b representa la máxima tasa de fotosíntesis a DFF saturante (A_{DFFsat}); (b+d), es el punto de corte con el eje de las ordenadas es la respiración mitocondrial en oscuridad (R_d) y el producto (*K*DFF*) representa la eficiencia cuántica aparente (Φ_{CO2}), es decir, la porción lineal de las curvas; el punto de corte con el eje de las abscisas representa el punto de compensación de luz (PCL), es decir la DFF a la cual la A y la respiración se igualan y por tanto el flujo neto de intercambio gaseoso total es cero.

$$PCL = Ln\ (-b/d)/K \quad \textbf{(2)}$$

Curvas A *vs* C_i

Se realizaron curvas de respuesta de la A a la C_i en 4 diferentes individuos de cada clon (n = 4) en 6 diferentes clones de robusta (SICA 1, 2, 3, 4, ECU ROBUSTA 01 Y Conilón 1). Se utilizó un CIRAS 2, para hacer las curvas de respuesta A *vs* C_i. Las medidas se realizaron a diferentes concentraciones de CO_2 ambiental (C_a), incrementando progresivamente la C_a desde 0 hasta 2000 µmol mol^{-1}. Todas las curvas se realizaron a 21% de O_2, T_f de 30 ± 1 °C, DFF de 1200 ± 20 µmol m^{-2} s^{-1} y un DPV de 20 mbares.

En las curvas A *vs* C_i la porción lineal determina la eficiencia de carboxilación (EC); el punto de corte con el eje de las ordenadas la tasa de respiración mitocondrial diurna (R_D); la fotosíntesis máxima a una concentración intercelular de CO_2 saturante (A_{CO2sat}) y el punto de corte con el eje de las abscisas representa el punto de compensación de CO_2 (Γ), es decir la C_i a la cual la A y la respiración se igualan y por tanto el flujo neto de intercambio gaseoso total es cero.

Se usó el modelo de estado estacionario de la fotosíntesis (Von Caemmerer, 2013), para determinar *in vivo* la velocidad máxima de carboxilación de RuBisCO (V_{cmax}), tasa máxima del trasporte de electrones (J_{max}), tasa de utilización de las triosa fosfatos (TPU), usando el modelo propuesto por Sharkey *et al*., (2007; Sharkey, 2015).

El análisis de sensibilidad de las curvas A/C_i, a través de las funciones demanda suministro de las diferentes limitaciones de la fotosíntesis, permitió calcular la magnitud de la limitación estomática relativa; L_s (Farquhar y Sharkey, 1982) y evaluar así la contribución de g_s en la regulación de A en café robusta.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño estadístico completamente aleatorizado. Se realizó un muestreo al azar de 5 plantas de cada clon (n = 5), en 15 genotipos de café robusta. Se realizó un ANAVA de una vía de los diferentes parámetros estudiados y la separación de medias se hizo con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de $p < 0,05$, usando INFOSTAF 2016. Se utilizó el programa SigmaPlot 11,0 para el ajuste de las curvas A *vs* DFF y A *vs* C_i.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Microclima

Los máximos valores de DFF (1200 µmol m^{-2} s^{-1}) fueron observados al medio día, al igual que la mayor T_a y los menores % HR (Figura 1). El Sarán redujo efectivamente el 75 % de la DFF incidente en las plantas de café robusta (Figura 1A). No se observaron diferencias entre las variables % HR, T_a y C_a, dentro y fuera del vivero. A lo largo del día la C_a fue de aproximadamente 410 µmol mol^{-1}; los altos valores de C_a en tempranas horas de las mañanas se debe posiblemente a la respiración edáfica y nocturna en las plantas (Figura 1B, C, D).

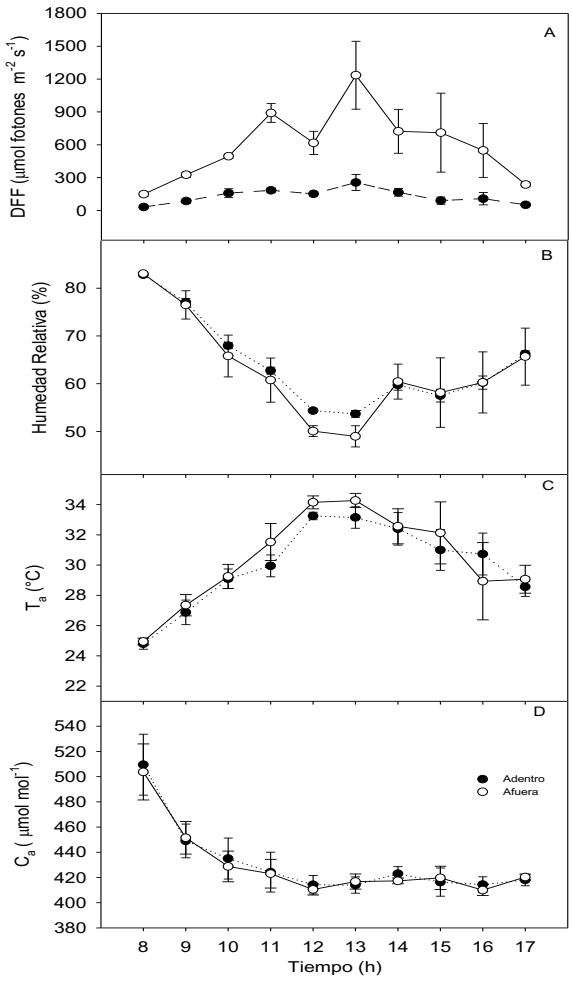

Figura 1. Curso diario de las variables microclimáticas: A. Densidad de flujo fotónico; B. Humedad relativa; C. Temperatura del aire; D. Concentración ambiental de CO_2. Las medidas fueron tomadas dentro (círculos cerrados) y fuera del vivero (círculos abiertos) en 7 diferentes días (n = 7).

Intercambio gaseoso

Se observó diferencias significativas en A entre los diferentes clones de café robusta evaluados ($p<0,05$), encontrándose las menores A en NP 3056 P10 y las mayores en ECU ROBUSTA 01 (Figura 2A).

Se observó diferencias significativas entre clones en la g_s, las menores se encontraron en SICA 4 mientras que las mayores se observaron NP 3056 P10 (Figura 2B). Las mayores EUA se observaron en los clones Conilón 1, Conilón 2 y ECU ROBUSTA 01 en comparación con las menores encontradas en los clones NP 3056 P10 y NP 2024 P1 (Figura 2C), indicando que los primeros tienen posibilidades de un mejor uso del recurso hídrico.

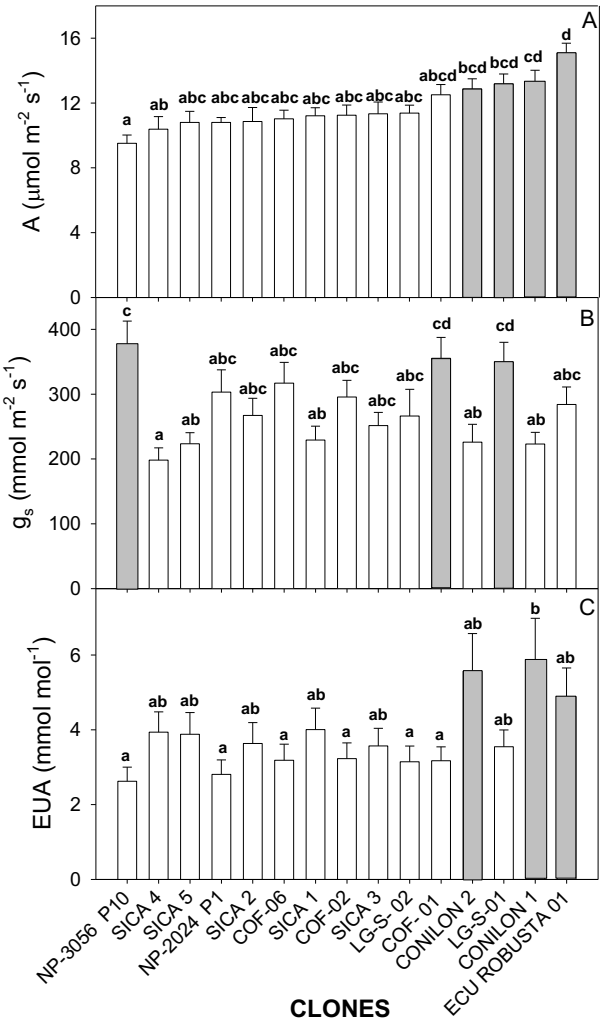

Figura 2. Intercambio gaseoso de 15 diferentes clones de café robusta, A. tasa de Fotosíntesis, B. Conductancia estomática, C. Eficiencia de uso de agua, en plantas creciendo en el invernadero del Jardín Botánico de Mutile, con buen suministro hídrico y nutricional. Cada barra muestra el promedio de 4 diferentes muestreos. Las barras grises muestran los clones con mayores valores en cada parámetro evaluado. Letras diferentes indican diferencias significativas entre clones ($p<0,05$).

Los resultados del intercambio gaseoso fueron similares a los reportados en cultivares de café arábigo (Loyaga, 2017; Tezara *et al.,* 2018) y mayores a los reportados previamente en café (DaMatta *et al.,* 2007). En general, la A observada en diversas especies leñosas perennes, incluyendo al café, ha sido obtenida en plantas jóvenes que crecen en potes bajo condiciones de invernadero,

registrándose valores muy bajos con relación a los obtenidos en campo para un determinado valor de g_s, en donde la A escasamente sobrepasa valores de 12 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} (DaMatta y Rodríguez, 2007).

La E mostró diferencias significativas entre los 15 clones de café robusta evaluados. La menor E fue observada en los clones SICA 4 y Conilón 1 (3,2 mmol m^{-2} s^{-1}) en comparación con las mayores E, observadas en los clones NP 3056 P10 y NP 2024 P1 (4,8 mmol m^{-2} s^{-1}), lo que explica la menor EUA de estos clones. Similares valores de E han sido reportados previamente en café en Esmeraldas (Loyaga, 2017; Tezara *et al.,* 2018).

La C_i, tuvo diferencias significativas entre clones, los valores se encontraron entre 260 ± 10 µmol mol^{-1} (SICA 1) y 307 ± 5 µmol mol^{-1} en los clones NP 3056 P10, NP 2024 P1, y COF–01, respectivamente.

En los 15 clones de café robusta evaluados, no se encontró una relación entre la A y g_s (p>0,45), sugiriendo que en los clones de café robusta la A fue independiente de la g_s. Resultados similares han sido reportados para clones de robusta y Conilon (DaMatta *et al.,* 2007) y contrario a los reportados en café arábigo, donde se encontró una relación lineal significativa entre A y g_s (DaMatta *et al.,* 2007; Loyaga, 2017; Tezara *et al.,* 2018). Los resultados señalan que en los clones de café robusta estudiados, la apertura de los estomas, aparentemente, no regula la A.

En los diferentes clones de café robusta, la A fue independiente del VPD (p=0,16), sugiriendo que los clones evaluados, en buena condición hídrica y nutricionales las respuestas de la g_s al VPD fue pequeña o ausente, es decir, no existe un control estomático fuerte.

La ausencia de correlación A y el VPD, indica que los estomas no responden al gradiente de humedad del aire en café robusta, a diferencia de lo reportado en café arábigo, el cual mostró una fuerte sensibilidad estomática al aumento VPD (DaMatta y Ramalho, 2006; Loyaga, 2017; Tezara *et al.,* 2018). Existe evidencia en *C. canephora* de que el control de la apertura estomática está determinado, por señales químicas procedentes de raíces y es menos sensible a la disminución de la disponibilidad hídrica el suelo que en el café arábico (Fahl *et al.,* 2001) y por lo tanto, el requisito de un control estomático eficaz de la E, no sería tan imperativo para el café robusta como para el arábico.

Los estomas del cafeto responden fuertemente a la demanda evaporativa de la atmósfera, lo cual se traduce en una reducción significativa de la g_s en la medida en que el aire se torne más seco (Barros *et al.,* 1997; DaMatta y Ramalho, 2006; Pinheiro *et al.,* 2005). En las horas del día en donde se registran altas T_a y la HR es mayor, como ocurre en las plantaciones arborizadas, puede observarse mayor apertura estomática, especialmente cuando el suministro o la disponibilidad de agua no es limitante (Tesha y Kumar, 1978). De ese modo, los estomas del cafeto pueden responder a las variaciones en la demanda evaporativa de forma independiente del status hídrico foliar.

En los 15 clones de café robusta evaluados, en buena condición hídrica y nutricional, se encontró una relación lineal entre la EUA y el VPD (Figura 3). Se observó las mayores EUA en los clones (Conilón 1, 2 y ECU ROBUSTA 01) a mayores valores de VPD, mientras que el clon (NP 3056 P10) tuvo las más bajas EUA. Es necesario conocer en detalle la respuesta de la g_s y EUA al VPD, no está claro por qué estas respuestas en café robusta, más estudios en esta dirección son aún necesarios.

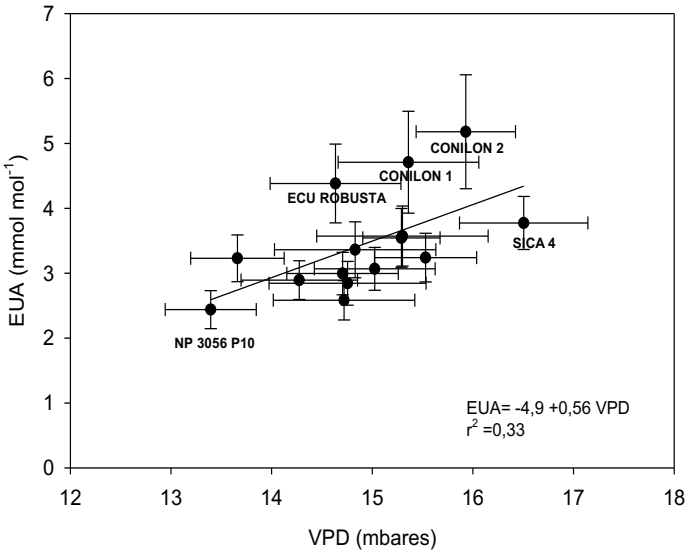

Figura 3. Relación entre la eficiencia de uso de agua y el gradiente de vapor de agua hoja- aire en 15 diferentes clones de café robusta evaluados. Se muestra la ecuación de regresión y el coeficiente de determinación, significativo a p<0,05.

El café muestra tasas relativamente bajas de A y probablemente requiere grandes cantidades de carbohidratos para mantener altos rendimientos, pero las complejas interacciones entre A, asignación y almacenamiento de carbono y los sumideros no han sido adecuadamente examinados. No se ha dedicado ningún esfuerzo a determinar las razones fisiológicas del por qué *C. canephora* es generalmente más productivo que los cultivares de arábica y cómo estas diferencias podrían ser manipuladas a través de la ingeniería genética (DaMatta *et al.,* 2007).

A *vs* DFF

Las curvas A *vs* DFF de 6 diferentes clones de café robusta se muestran Figura 4. Todos los ajustes mostrados corresponden a una hipérbola rectangular con excelentes ajustes y altos coeficientes de determinación (r^2) superior a los 0,95 ($p<0,05$; Figura 4).

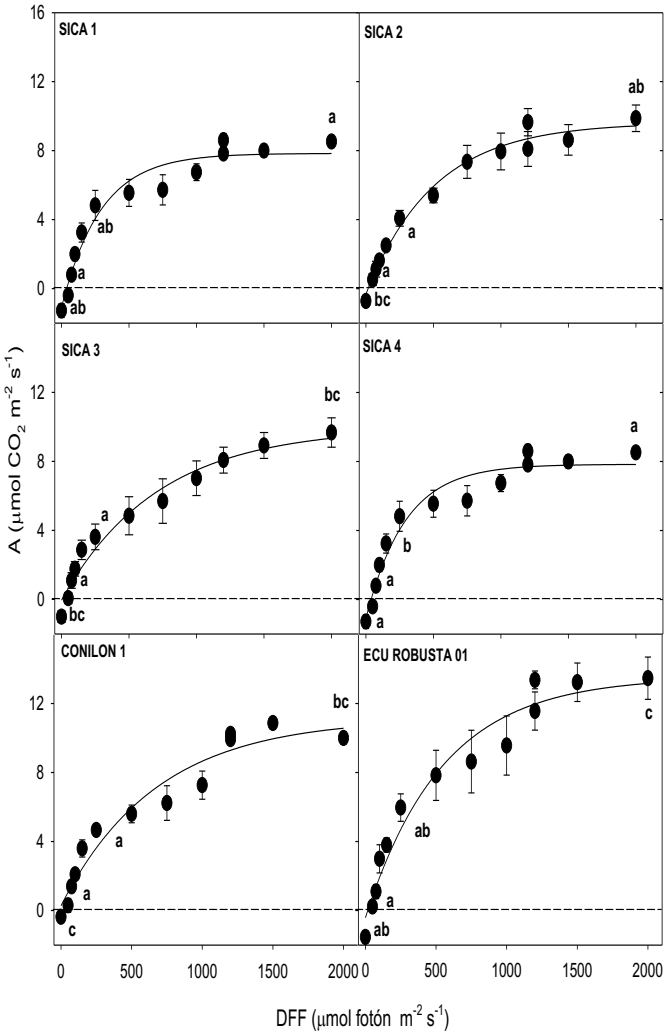

Figura 4. Curva de respuesta de la fotosíntesis a la densidad de flujo fotónico (A *vs* DFF) en 6 diferentes clones de café robustas (n=4). Letras diferentes en las diferentes regiones de la curva indican diferencias significativas entre clones ($p<0,05$).

Se encontraron diferencias significativas en las curvas A *vs* DFF entre los 6 clones estudiados; encontrándose diferencias significativas en los 4 parámetros evaluados (Φ_{CO2}, R_d, A_{DFFsat}, PCL). La mayor A_{DFFsat} se encontró en ECU ROBUSTA 01 (14,2 µmol m^{-2} s^{-1}), y la menor en SICA 1 y 4 (12,5 µmol m^{-2} s^{-1}; Cuadro 2).

Los parámetros de las curvas A *vs* DFF en café robusta, fueron similares a los reportados previamente en café (Cavatte *et al.,* 2011; Martins *et al.,* 2014; Rodriguez-Lopez *et al.,* 2012, 2014; Araujo *et al.,* 2008; DaMatta *et al.,* 2007).
La intensidad de luz a la cual se saturaron los clones fue relativamente alta (PSL >1000 µmol m^{-2} s^{-1}; Figura 4). La menor tasa de respiración mitocondrial en oscuridad (R_d) se midió en Conilón 1, mientras que la mayor se obtuvo en SICA 4 (Cuadro 2).

El PSL de los clones de robusta estudiados fue superior a lo reportado en diferentes cultivares y/o clones de café (~600 µmol m^{-2} s^{-1}) (Cavatte *et al.,* 2011; Martins *et al.,* 2014; Rodriguez-Lopez *et al.,* 2012; 2014; Araujo *et al.,* 2008; DaMatta *et al.,* 2007).

Cuadro 2. La tasa de fotosíntesis a DFF saturante, tasa de respiración en oscuridad, eficiencia cuántica aparente y punto de compensación de luz de hojas de 6 clones de café robusta (n=4). Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre clones ($p<0,05$).

Clon	A_{DFFsat} (µmol m^{-2} s^{-1})	R_d (µmol m^{-2} s^{-1})	Φ_{CO2} (mol CO_2 mol $fotones^{-1}$)	PCL (µmol m^{-2} s^{-1})
SICA 1	8,5 ± 0,7 a	-1,08 ± 0,3b	0,0319 ± 0,008 ab	34,4 ± 9,4 a
SICA 2	9,8 ± 0,6 ab	-0,34 ± 0,2 bc	0,0201 ± 0,003 a	19,0 ± 8,7 a
SICA 3	12,5 ± 1,6 bc	-0,22 ± 0,4 bc	0,0177 ± 0,007 a	32,0 ± 11,4 a
SICA 4	8,6 ± 0,7 a	-1,40 ± 0,3 a	0,0395 ± 0,003 b	37,2 ± 6,3 a
CONILON 1	12,3± 1,5 bc	-0,06 ± 0,4 c	0,018± 0,005 a	18,6 ± 3,6 a
ECU ROBUSTA 01	14,2 ±1,7 c	-1,0±0,3 ab	0,035±0,009 ab	30,5 ± 5,6 a

Las R_d varió entre -0.06 y -1,4 µmol m^{-2} s^{-1}, similar a lo reportado en otros cultivares de café (Tezara, 2017). La mayor Φ_{CO2}, fue en SICA 4 y ECU Robusta 01 (0,035-0,039 mol CO_2 mol $fotones^{-1}$), superiores a los reportados en café arábiga (Cavatte *et al.,* 2011; Araujo *et al.,* 2008); indicando que estos clones tienen un mejor uso de la luz.

No se encontraron diferencias significativas en PCL, observándose que para todos los clones evaluados, que el PCL fue menor de 50 µmol m^{-2} s^{-1}, indicando que el café robusta es una especie umbrófila.

A *vs* C_i

En las curvas A *vs* C_i de los clones de café robusta estudiados; hubo diferencias significativas entre los clones (Figura 5). El clon ECU ROBUSTA 01 mostró la mayor A_{CO2sat}. Se pudo observar diferencias significativas entre clones en los parámetros A_{CO2sat}, R_D, EC, Γ y L_s (Cuadro 3).

Las mayores A_{CO2sat} se encontraron en los clones SICA 4, Conilón 1 y ECU ROBUSTA 01 (28-30 µmol m^{-2} s^{-1}),

y las menores en SICA 1, SICA 2 y SICA 3 (25,2 µmol m^{-2} s^{-1}; Cuadro 3); indicando una mayor capacidad fotosintética a elevadas concentraciones de CO_2 en ECU ROBUSTA 01. Los valores de A_{CO2sat} en este estudio fueron mayores a las reportadas en café arábigo (Cavatte *et al.,* 2011; Araujo *et al.,* 2008).

La menor R_D se midió en Conilón 1, mientras que la mayor se obtuvo en SICA 4 (Cuadro 3). La mayor R_D SICA 4, sugirió una mayor tasa de fotorrespiración en el Conilón 1.

La mayor relación entre la cantidad de CO_2 fijado en fotosíntesis por cantidad de CO_2 en los espacios intercelulares del mesófilo de la hoja (EC), fue en el clon SICA 1 (0.19 mol m^{-2} s^{-1}), mientras que el clon menos eficiente utilizando el CO_2 fue SICA 4 (0,10 mol m^{-2} s^{-1}) (Cuadro 3). En café han sido reportados valores de EC inferiores (Tezara, 2017).

Se encontraron diferencias significativas en Γ, el mayor se observó en el clon SICA 4 y el menor en SICA 1 (Cuadro 3), sugiriendo que SICA 1 a bajas C_i (85 µmol mol^{-1}) se alcanzó el un equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración y por tanto el flujo neto de CO_2 es cero.

Cuadro 3. La tasa de fotosíntesis a C_i saturante, tasa de respiración diurna, eficiencia de carboxilación, punto de compensación de CO_2 y limitación estomática relativa de hojas de 6 clones de café robustas (n=4). Letras diferentes en cada columna, indican diferencias significativas entre clones (p<0,05).

Clones	A_{CO2sat} (mmol m^{-2} s^{-1})	R_D (mmol m^{-2} s^{-1}	EC (mol m^{-2} s^{-1})	Γ (mmol mol^{-1})	L_s (%)
SICA 1	25,2 ± 3 a	-3,5 ± 0,1 a	0,192 ± 0,04 b	85 ± 6 a	22 ± 4 a
SICA 2	25,7 ± 2 a	-3,4 ± 0,04 a	0,184 ± 0,03 ab	91 ± 4 ab	24 ± 2 ab
SICA 3	25,8 ± 1 a	-3,5 ± 0,4 ab	0,107 ± 0,01 ab	89 ± 7 ab	28 ± 2ab
SICA 4	30,1 ± 3 ab	-3,6 ± 0,03 b	0,100 ± 0,02 a	105 ± 6 b	32 ± 2 b
CONILON 1	28,3 ± 3 ab	-5,1 ± 0,1 a	0,169 ± 0,03 ab	88 ± 2 ab	24 ± 2 ab
ECU ROBUSTA 01	30,1 ± 2 b	-5,1 ± 0,2 a	0,174 ± 0,03 ab	86 ± 4 ab	24 ± 3 ab

La mayor limitación estomática relativa (L_s) se encontró en el clon SICA 4 (32 %) y la menor en el SICA 1 (22 %; Cuadro 4). Los valores encontrados de L_s, indican que la A está limitada entre un 22 y 32%, esto fue apoyado por los valores de C_i operacional obtenidos en las medidas de intercambio gaseoso (260-300 µmol mol^{-1}), los cuales fueron aproximadamente un 20-30% menores que la concentración ambiental de CO_2.

La L_s de los 6 clones de café robusta estudiados fue entre 22-32 %, siendo estos valores inferiores a los reportados en café arábigo (38 %; Cavatte *et al.,* 2011; Araujo *et al.,* 2008; Tezara, 2017).

Los parámetros (A_{CO2sat}, R_D, EC, Γ y L_s) estimados de las curvas A *vs* C_i de los clones de café robusta estudiados, fue similar a la reportadas previamente en diferentes cultivares de café (Cavatte *et al.,* 2011; Martins *et al.,* 2014; Rodríguez-Lopez *et al.,* 2012, 2014; Araujo *et al.,* 2008; DaMatta *et al.,* 2007).

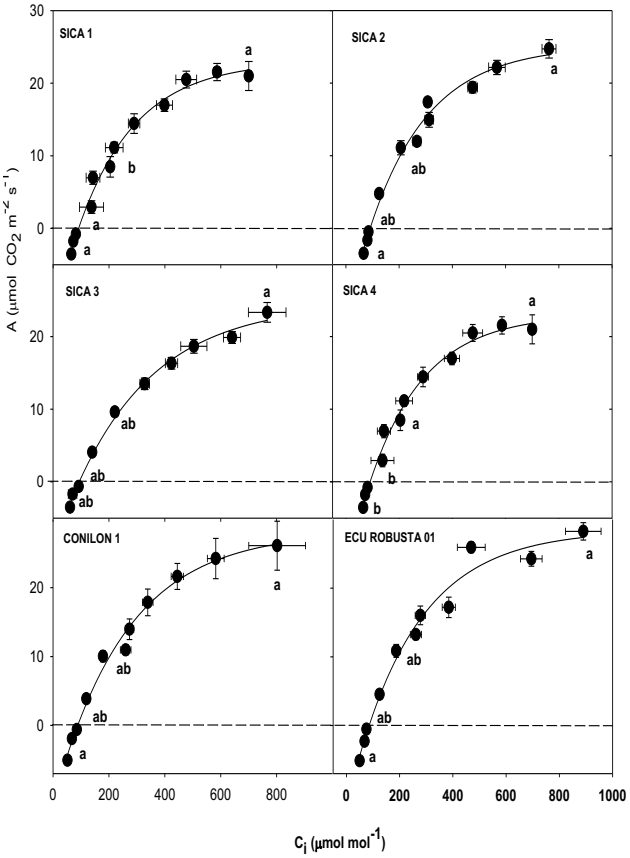

Figura 5. Curva de respuesta de la fotosíntesis a la concentración intercelular de CO_2 (A *vs* C_i) en 6 diferentes clones de café robustas (n=4). Letras diferentes en las diferentes regiones de la curva, indican diferencias significativas entre clones (p<0,05).

Las mayores V_{Cmax}, J_{max} y TPU fueron observadas en los clones ECU ROBUSTA 1 y SICA 1, indicando una mayor capacidad fotosintética en estos clones, por el contrario los clones SICA 3 y 4 mostraron la menor capacidad fotosintética (Cuadro 4). La tasa de utilización TPU, vario en 7,9 y 10,1 µmol m^{-2} s^{-1}. Todos los parámetros estimados en los clones robusta fueron superiores a los mostrados en café arábigo (Cavatte *et al.,* 2011; Martins *et al.,* 2014; Araujo *et al.,* 2008; DaMatta *et al.,* 2007).

Cuadro 4. Parámetros bioquímicos estimados del modelo de Sharkey (2015): velocidad máxima de carboxilación, tasa máxima de transporte de electrones y tasa de utilización de las triosas fosfatos de 6 cultivares de café robusta en plantas en buena condición hídrica. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre clones (p<0,05).

Clon	V_{cmax} (µmol m^{-2} s^{-1})	J_{max} (µmol m^{-2} s^{-1})	TPU (µmol m^{-2} s^{-1})
SICA 4	88,1 ± 8 a	96,7 ± 5 a	8,3 ± 0,4 a
SICA 3	101 ± 11 a	109,2 ± 5 b	8,0 ± 0,3 a
SICA2	128,6 ± 6 b	118,1 ± 4 bc	8,9 ± 0,4 b
SICA 1	112,6 ± 15 a	116,9 ± 6 bc	7,9 ± 0,4 a
CONILON 1	111 ± 10 a	118,1 ± 9 bc	8,7 ± 1,1 b
ECU ROBUSTA 1	125,4 ± 13 b	136,3 ± 5 c	10,1 ± 0,3 c

CONCLUSIONES

Se encontraron diferencias significativas en el intercambio gaseoso entre los 15 clones de café robusta estudiados; contribuyendo con el conocimiento de aspectos fisiológicos relacionados con la capacidad fotosintética del café robusta en el Ecuador.

Los clones: ECU ROBUSTA 01, Conilón 1 y Conilón 2 mostraron las mayores A. Mientras que la mayor g_s se observó en NP 3056 P10; siendo estos valores máximos de A y g_s. Las mayores EUA se observaron en Conilón 1, Conilón 2, y ECU ROBUSTA 01, sugiriendo que estos clones podrían tener un mejor uso del recurso hídrico; mientras que NP 3056 P10 y NP 2024 P1, son los clones menos eficientes en el uso de agua.

Se observaron diferencias en las curvas A *vs* DFF entre los clones ECU ROBUSTA 01, Conilón 1 y los SICA. Se encontraron PCL < 50 µmol m^{-2} s^{-1}, que son valores típicos de especies umbrófilas; aun cuando mostraron altos PSL (>1000 µmol m^{-2} s^{-1}), característicos de especies heliófilas.

Las diferencias significativas en respuesta a corto plazo de la fotosíntesis a la concentración intercelular de CO_2 probablemente indican que hay clones con una mejor respuesta al incremento en la concentración de CO_2 atmosférica.

Los valores estimados de los parámetros bioquímicos (V_{Cmax}, J_{max}, y TPU) fueron mayores en ECU ROBUSTA 1 y SICA 1, indicando una mayor capacidad fotosintética en estos clones, los que podrían tener una mayor productividad en la zona de Esmeraldas y, por tanto, tendría una mejor respuesta fisiológica al cambio climático.

Es necesario realizar más investigaciones fisiológicas en plantas adultas de café en Esmeraldas y otras provincias del Ecuador y relacionarlas con la producción para llegar a conclusiones definitivas; y así poder determinar los clones más eficientes para cada zona agroecológica del país.

LITERATURA CITADA

Araujo, W. L.; Dias P.C.; Moraes, G A.B.K; Celin E.F.; Cunha R.L.; Barros R.S.; DaMatta F.M. 2008. Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. Plant Physiology and Biochemistry 46: 884–890.

Barros, R.S.; Mota, J.W.S.; DaMatta F.M.; Maestri M. 1997. Decline of vegetative growth in *Coffea arabica* L. in relation to leaf temperature, water potential and stomatal conductance. Field Crops Res. 54:65–72.

Carelli, M.L.C., Fahl, J.I.; and Ramalho, J.D.C. 2006. Aspects of nitrogen metabolism in coffee plants. Braz. J. Plant Physiol. 18:9-21.

Cavatte, P.C.; Martins, S.C.V.; Wolfgramm, R., DaMatta, F.M. 2008. Physiological responses of two coffee (*Coffea canephora*) genotypes to soil water deficit. In: Sanchez JM (ed), Droughts: Causes, Effects and Predictions. Nova Science Publishers, New York.

Cavatte, P.C.; Rodríguez-López, N.F.; Martins, S.C.V.; Mattos, M.S.; Sanglard, L.M.; DaMatta, F.M. 2012. Functional analysis of the relative growth rate, chemical composition, construction and maintenance costs, and the payback time of *Coffea arabica* L. leaves in response to light and water availability**.** J. Exp. Bot. 63(8): 3071–3082.

Cavatte, P.C.; Oliveira, A,A,G.; Morais, L.E.; Martins S,C,V.; Sanglard, L.M.V.P.; DaMatta, FM. 2011. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morpho physiological analysis. Physiol. Plant. 144(2):111–22.

COFENAC (Consejo Cafetalero Nacional). 2013. Situación del Sector Cafertalero Ecuatoriano. Consultado el 07 de diciembre de 2014, de http://www.cofenac.org/wp-content/uploads/2010/09/situacion-sector-cafe-ecu-2013.pdf

DaMatta, F.M. y Rena, A.B. 2001. Tolerância do café à seca. In: Zambolin L (ed), Tecnologias de Produção de Café com Qualidade, pp. 65-100. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DaMatta, F.M., Loos, R.A., Rodrigues, R., Barros, R.S. 2001. Actual and potential photosynthetic rates of tropical crop species. Braz. J. Plant Physiol. 13:24–32.

DaMatta, F.M. y Rena, A.B. 2002. Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno Sol. In: Zambolim L (ed), O Estado da Arte de Tecnologias na Produção de Café, pp. 93-135. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DaMatta, F.M. 2003. Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. In: Hemantaranjan A (ed), Advances in Plant Physiology. 5:227-265. Scientific Publishers, Jodhpur.

DaMatta, F.M. 2004. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. Field Crops Res. 86:99–114.

DaMatta, F.M. and Rodríguez, N. 2007. Producción sostenible de cafetales en sistemas agroforestales del Neotrópico: una visión: agronómica y ecofisiológica. Agronomía Colombiana 25(1):113–123.

DaMatta, F.M. and Ramalho, J.D.C. 2006. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. Braz. J. Plant Physiol. 18:55–81.

DaMatta, F.M.; Ronchi, C.P.; Maestri, M.; Barros, R. S. 2007. Ecophysiology of coffee growth and production. Braz. J. Plant Physiol., 19(4):485–510.

DaMatta, F.M.; Godoy, A.G.; Menezes-Silva, P.E.; Martins, S.C.V.; Sanglard, L.M.V.; Morais, L.E.; Torre-Neto, A.; Ghini, R. 2016. Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO_2 enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations J. Exp. Bot. 167:341–352.

DaMatta, F.M.; Rahn E.; Läderach P.; Ghini R; Ramalho J.C. 2019. Why could the coffee crop endure climate change and global warming to a greater extent than previously estimated? Climatic Change152:167–178.

Duicela, L. 1993. Manual del cultivo de café. Quevedo - Ecuador: Estación Experimental Tropical Pichilingue.

Duicela, L., Corral, G., and Chilan, W. 2016. Selección de "Cabezas de clon" en Café robusta (*Coffea canephora*) en el trópico seco, Ecuador. ESPAMCIENCIA 7 (1): 23–35.

Duicela, L. 2017a. Café robusta: Producción y poscosecha. Humus ESPAM MFL (Ed.). Calceta-Manabí-Ecuador. p. 292. ISBN: 9789942859587.

Duicela, L. 2017b. Comunicación personal, con el Profesor Duicela en una discusión que dio en la REDUCAFE en la ciudad de Guayaquil, el vieres 10 de marzo del 2017.

Eskes, A.B. 1989a. Disponibilidad de variabilidad genética en café. In VIII Reunión Regional de Mejoramiento Genético del Café. San Pedro Sula, HN, IICA. pp. 1-10.

Eskes, A.B. 1989b. Resistance. In: Kushalappa AC, Eskes AB (Eds.) Coffee Rust: Epidemiology, Resistance and Management. Boca Raton FL, USA. CRC Press. pp. 171–277.

Fahl, J.I.; Carelli, M.L.C.; Vega, J., Magalhães, A.C. 1994. Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica L.*). J. Hort. Sci. 69:161–169.

Fahl, J.I.; Carelli, M.L.C.; Menezes, H.C.; Gallo, P.B.; Trivelin, P.C.O. 2001. Gas exchange, growth, yield and beverage quality of *Coffea arabica* cultivars grafted on to *C. canephora* and *C. congensis*. Exp. Agric. 37:241–252.

Farquhar, G.D. and Sharkey, T.D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Review Plant Physiology 33:317–345.

Fassio, L.H. and Silva, A.E.S. 2007. Importância econômica e social do café conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, De Muner LH (eds), Café Conilon, pp.37-49. Seag/Incaper, Vitória.

INOCAR (Instituto Oceanográfico de la Armada). 2012. Climatología Ecuador. https://www.inocar.mil.ec/web/index.php.

ICO (International Coffee Organization). 2016. Consultado el 19 de marzo de 2017, de http://www.ico.org/new_historical.asp.

ICO (International Coffee Organization). 2020a. Consultado el 03 de mayo de 2020, de http://www.ico.org/new_historical.asp.

ICO (International Coffee Organization). 2020b. Consultado el 02 de septiembre de 2020, de http://www.ico.org/es/botanical_c.asp.

Kumar, D. and Tieszen, L.L. 1980. Photosynthesis in *Coffea arabica*. I. Effects of light and temperature. Exp. Agric. 16:13-19.

Loyaga, D.W. 2017. Caracterización agronómica y fisiológica de 10 cultivares de café arábica (*Coffea arabica*) y su respuesta al déficit hídrico. Tesis de grado bajo modalidad de trabajo experimental como requisito previo para obtener el título de ingeniero agrónomo, en UTELVT. 68 pp.

Martins, L. D.; Tomaz, M. A.; Lidon, F. C.; DaMatta, F. M.; Ramalho, J.C. 2014. Combined effects of elevated [CO_2] and high temperature on leaf mineral balance in *Coffea* spp. plants. Global Climate Change 126:365–379.

Martins, M.Q.; Rodrigues, W.P.; Fortunato, A.S.; Leitão, A.E.; Rodrigues A.P.; Pais I.P.; Martins, L.D.; Silva, M.J.; Rebodero, F.M.; Partelli, F.L.; Campostrini, E.; Tomaz, M.A.; Campos, P.S.; Barros, A.I.; Lidon, F.C.; DaMatta, F.M.; Ramalho, J.C. 2016. Protective Response Mechanisms to Heat Stress in Interaction with High [CO_2] Conditions in *Coffea* spp. Frontiers in Plant Science. 7: 1–18.

Pinheiro, H.A.; DaMatta, F.M.; Chaves, A.R.M.; Loureiro, M.E.; Ducatti, C. 2005. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. Ann. Bot. 96:101–108.

PROECUADOR. 2013. Análisis sectorial de cafe. Consultado el 07 de 12 de 2014, de http://www.proecuador.gob.ec/wpcontent/uploads/2013/05/PROEC_AS2013_CAFE.pdf.

Rodrígues, W,P.; Martins, M.Q.; Fortunato, A.S.; Rodrigues, A.P.; Semedo, J.N.; Siomoes-Costa, M.; Pais, I.; Leitao, A.E.; Colwell, F.; Goulao, L.; Màguas, C.; Maia, R.; Parteli, F.L.; Campostrini, E.; Scottri-Campos, P.; Ribeiro-Barros, A.I.; Lidon, F.C.; Damatta, F.M.; Ramalho, J.C. 2016. Long-term elevated air [CO_2] strengthens photosynthetic functioning and mitigates the impact of supra-optimal temperatures in tropical *Coffea arabica and C. canephora* species. Global change biology 22 (1): 415–431.

Rodríguez-López, N.F.; Cavatte, P.C.; Silva, P.E.M.; Martins, S.C.V.; Morais, L.E.; DaMatta F.M. 2012. Physiological and biochemical abilities of robusta coffee leaves for acclimation to cope with temporal changes in light availability. Physiol. Plant. 149(1):45–55.

Rodríguez-López, N.F.; Martins, S.C.V.; Cavatte, P.C.; Silva, P.E.M.; Morais, L.E. 2014. Morphological and physiological acclimations of coffee seedlings to growth over a range of fixed or changing light supplies. Environmental and Experimental Botany 102:1–10.

Rojo, J.E. 2014. Café I (*G. Coffea*). Reduca (Biología). Serie Botánica. 7 (2): 113-132.

Sharkey, T.D. 2015. What gas exchange data can tell us about photosynthesis? Plant, Cell & Environment. 39(6):1161–1163. doi: 10.1111/pce.12641.

Sharkey, T.D.; Bernacchi, C.J.; Farquhar, G.D.; Singsaas, E.L. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. Plant, Cell & Environment 30:1035–1040.

Tesha, A.J. and Kumar, D.1978. Effect of fertilizer nitrogen on drought resistance in *Coffea arabica* L. (coffee, water saturation deficit values, plant injuries. J. Agric. Sci. 90:625–631.

Tezara, W.; Loyaga, D.; Mendoza, P.; Bolaños, M.; Reynel, V. 2018. Intercambio gaseoso en café y su respuesta al déficit hídrico. Memorias del Instituto de Biología Experimental vol. 9: 89-92.

Tezara, W. 2017. Características ecofisiológicas y productivas del café y cacao En: Bases agronómicas, fisiológicas y tecnológicas del café y cacao. Eds: W Tezara y E Escalante. Pp 12-27 ISBN: 978-9942-8657-6-2. Editorial CIDE, Ecuador.

Tezara, W.; Fernández, M. D.; Donoso, C.; Herrera, A. 1998. Seasonal changes in photosynthesis and stomatal conductance in five plant species from a semiarid ecosystem. Photosynthetica 35:399–410

Von Caemmerer, S. 2013. Steady-state models of photosynthesis. Plant, Cell and Environment 36: 1617–1630.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE LA LECHE EN SISTEMAS DE ORDEÑO EN EL MUNICIPIO MATURÍN, MONAGAS, VENEZUELA

BACTERIOLOGICAL QUALITY OF MILK IN MILKING SYSTEMS IN THE MUNICIPALITY OF MATURÍN, MONAGAS, VENEZUELA

Bárbara Guevara-Ramos[1], Magalys Rivas-Nichorzon[1], Ramón Silva-Acuña[2]

[1]Universidad de Oriente, Escuela de Zootecnia, Departamento de Biología y Sanidad Animal, Avenida Universidad, Campus Los Guaritos.
[2]Postgrado Agricultura Tropical, Campus Juanico, C.P: 6201. Maturín, estado Monagas, Venezuela

Correo: barbaraguevara95@gmail.com

Información del artículo

Tipo de artículo:
Artículo original

Recibido:
14/08/2020

Aceptado:
25/11/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA
11(2):68-74

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.216

Resumen

El objetivo de la presente investigación fue determinar la calidad bacteriológica de la leche cruda procedente de dos sistemas de ordeño en fincas bovinas del municipio Maturín, estado Monagas. El ensayo se condujo por seis semanas y se cuantificó las poblaciones de coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *Escherichia coli* presentes en las muestras. El experimento se instaló en un diseño de bloques al azar con arreglo factorial (2x2), donde el factor (A) correspondió a los tipos de ordeño, manual y mecánico, y el factor (B) a la aplicación u omisión de secado de los pezones de cada animal previo al ordeño. Las variables cuantificadas fueron examinada por análisis de varianza y sus valores promedios comparados por Tukey a 5% de probabilidad. El factor sistema de ordeño detectó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para el recuento de CT, siendo en el sistema manual donde ocurrió el menor conteo con 5,76 Log_{10} NMP.mL^{-1}. Para el factor aplicación o no del secado en la rutina de ordeño se constató diferencias altamente significativas ($p \leq 0,001$) en la población de CT, en este caso la práctica de secado al pezón presentó el menor recuento con 5,60 Log_{10} NMP.mL^{-1}. Las poblaciones de CF y *E. coli,* disminuyeron con la aplicación de secado. Los métodos implementados durante la rutina de ordeño influyen directamente en la calidad bacteriológica de la leche cruda.

Palabras clave: Leche cruda, microbiología, coliformes, secado.

Abstract

he objective of this research was to determine the bacteriological quality of raw milk from two milking systems on bovine farms in the Maturín municipality, state of Monagas. The test was conducted for six weeks. The populations of total coliforms (TC), fecal coliforms (CF) and *Escherichia coli* in the samples were quantified. The experiment was set up in a randomized block design with a factorial (2x2) arrangement, where factor (A) corresponded to the types of milking, manual and mechanical, and factor (B) drying vs non-drying teats of each animal prior to milking. The quantified variables were examined by analysis of variance and their mean values compared by Tukey at 5% probability. The milking system factor detected significant differences ($p \leq 0,05$) for the CT count, with the manual system showing the lowest count occurred with 5.76 Log_{10} NMP.mL^{-1}. For the factor drying vs non-drying teats in the milking routine, highly significant differences were found ($p \leq 0,001$) in the CT population, in this case the practice of teat drying presented the lowest count with 5.60 Log_{10} NMP.mL^{-1}. CF and E. coli populations, decreased with the application of drying. The methods implemented during the milking routine directly influence the bacteriological quality of raw milk.

Keywords: Raw milk, microbiology, coliforms, drying.

INTRODUCCIÓN

La leche es un compuesto líquido, opaco, de color blanco marfil y de sabor dulce, obtenido del ordeño higiénico, proveniente de un animal en buen estado de salud y alimentación (COVENIN, 1993). Por otro lado, Da Silva *et al.* (2016) lo señalan como un producto apto para el consumo humano por su alta calidad nutritiva, siempre y cuando se encuentre libre de sustancias tóxicas, microorganismos y calostros que alteran su composición.

La leche es el medio propicio e idóneo para el crecimiento y desarrollo de microorganismos causantes de su alteración (Cedeño *et al.*, 2015); de manera similar, las enfermedades que afectan al ganado influyen directamente su calidad e inocuidad, lo cual representa un peligro potencial para la salud pública si no se aplican prácticas de higiene durante las etapas de ordeño, transporte, procesamiento y manufactura (FAO, 2011).

Dada las características de la leche cruda, las bacterias son los microorganismos más favorecidos en su crecimiento y los coliformes los de mayor importancia en la industria láctea (Reyes *et al*., 2010; Riquelme y Bonifaz, 2012). Los coliformes son bacterias Gram negativas de morfología bacilar, aerobias o anaerobias facultativas, que crecen en presencia de sales biliares y fermentan la lactosa a una temperatura de 37º C obteniéndose como productos de fermentación el ácido láctico y gas. Aunque algunos coliformes se encuentran en la naturaleza, la mayoría son de origen entérico, es decir, proceden del intestino del humano y los animales, por esta razón son considerados un indicador importante de la calidad de la leche (Siqueira *et al*., 2014).

Bacterias como *Escherichia coli*, y otros microorganismos similares, denominados coliformes fecales, podrían llegar a ser patógenos. En consecuencia la presencia de estas en la leche representa un peligro y puede ser evidencia de contaminación fecal reciente, que sucede al ordeñar vacas con ubres sucias o cuando el equipo de ordeño está contaminado o con una higiene precaria (Alfaro *et al*., 2014). La calidad bacteriológica hace referencia a la identificación de la flora bacteriana presente en la leche, lo cual contribuye con la determinación de las principales fuentes de contaminación y que basados en esta sea posible establecer los correctivos necesarios para su posterior manejo (García *et al*., 2009).

En las unidades de producción lecheras o doble propósito, existen dos tipos de sistemas de ordeño, manual o mecánico, el primero, consiste en la extracción de la leche por medio de aplicación de presión con las manos sobre los pezones del animal, para ser recolectada en baldes o cantaras, en general este sistema requiere un mínimo de instrumentación y equipos (INTI, 2016); por otro lado, el ordeño mecánico utiliza un equipo de control de vacío y presión que simula el amamantamiento, consta de pezoneras, mangueras y tuberías por las cuales fluye la leche directamente hacia el tanque de recolección y almacenamiento (Chahine 2014; Martínez *et al*., 2011). En este sentido, para ambos sistemas, debe prevalecer las buenas prácticas de ordeño, que son medidas preventivas, que aplicadas a las instalaciones, al manejo de las vacas en las fases de ordeño, conservación de la leche, limpieza y desinfección, reducirán significativamente el riesgo de contaminación de la leche cruda por material extraño, microorganismos o sustancias químicas (Martínez *y* Gómez, 2013).

Es de considerar, la correcta preparación de la ubre antes del ordeño, esta práctica mejora considerablemente la calidad bacteriológica de la leche. Se debe realizar el lavado únicamente en los pezones con agua limpia y baja presión, asimismo es importante secarlos completamente antes del ordeño y se recomienda emplear toallas de papel individual, esta es una medida higiénica simple, que no agrega tiempo adicional a la rutina de ordeño, y que puede ser aplicada correctamente por los ordeñadores, con ello se protege la salud y además se crea una cultura de higiene en los productores para ofrecer un producto de calidad en las unidades de producción (Munera, 2017).

De manera general, las condiciones higiénicas y sanitarias bajo las cuales se realiza el ordeño influyen directamente sobre la calidad bacteriológica de la leche cruda, independientemente del sistema productivo, de los insumos y tecnologías utilizadas. Rutinas de ordeño que omiten las prácticas higiénicas recomendadas es una de las causas principales de altos recuentos microbianos en la leche. En función de lo antes planteado la presente investigación se realizó con el objetivo de determinar la calidad bacteriológica de la leche cruda proveniente de dos sistemas de ordeño, cuantificadas en relación a las poblaciones de coliformes totales, fecales y *E. coli*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de las fincas y caracterización de los sistemas de ordeño

La investigación se realizó en dos fincas bovinas lecheras, una con sistema de ordeño mecánico y la otra de forma manual, ambas ubicadas en el sector Vuelta Larga de la parroquia La Pica, municipio Maturín, estado Monagas. Las coordenadas geográficas corresponden a 9º 49’ 51” LN y, 63º 02’ 01” LO; ubicadas a la altitud de 24 m, temperatura promedio de 28ºC, humedad relativa de 63% y precipitación promedio anual de 1.271 mm (INAMEH, 2016).

La finca 1, realiza el ordeño de forma manual con apoyo del becerro, en el cual se emplean dos ordeñadores para un grupo total de veintidós vacas de la raza Carora. La finca 2, posee un sistema de ordeño mecánico, también con apoyo del becerro, el mismo cuenta con dos ordeñadores y un grupo total de sesenta vacas mestizas de las razas Carora, Pardo Suizo, Holstein y Simmental.

Toma de muestras

Las muestras de leche se recolectaron según los procedimientos descritos en la norma COVENIN 938 (1983). Todo el material utilizado para el muestreo fue esterilizado previamente a 121°C en autoclave del Laboratorio de Microbiología General de la Universidad de Oriente *Campus* Los Guaritos. En ambos sistemas de ordeño mecánico y manual la leche fue acopiada en cántaras, luego se realizó el mezclado homogéneo del líquido, utilizando guantes y un cucharón de metal estéril, posterior a esto se procedió a tomar las muestras.

Las muestras se colectaron en recipientes de vidrio con cierre hermético hasta obtener un volumen de 200 mL. Posteriormente se cerraron y se colocaron en un recipiente isotérmico, el cual contenía hielo en su interior para mantenerlas refrigeradas.

Se recolectaron cuatro muestras semanalmente y su traslado se realizó inmediatamente al Laboratorio de Microbiología General, ubicado en la Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, *Campus* Los Guaritos, donde se realizaron los análisis microbiológicos.

Determinación de las poblaciones de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*

Para determinar las poblaciones de coliformes totales, fecales y de *E. coli* se aplicó el método del número más probable (NMP) según la norma COVENIN 1104 (1996). Se tomó 1 mL de las diluciones seriadas preparadas y se inoculó en tres tubos por dilución con caldo lauril sulfato triptosa marca Himedia® M080. Se incubaron los cultivos a 37°C durante 48 horas, finalizado este periodo se agitó suavemente cada tubo y se observó la producción de gas. Se consideraron positivos aquellos tubos con producción de gas (CO_2) mediante la formación de burbujas y viraje de color por la liberación de ácidos. Seguidamente, se realizó una prueba confirmatoria a los tubos que resultaron positivos en la prueba anterior. Después de agitarlos suavemente, se inoculó una asada de cada uno a tubos de caldo Bilis Verde Brillante (BVB) marca Himedia® M121 previamente estéril, y se incubaron a 37°C durante 24 horas; después de ese periodo, se contaron y registraron aquellos tubos que presentaron producción de gas y turbidez. Los resultados obtenidos fueron extrapolados por la tabla de NMP, y se reportaron como Log_{10} NMP coliformes totales.L^{-1} de leche cruda.

Para la prueba confirmatoria de coliformes fecales, se tomaron los tubos con gas en caldo Bilis Verde Brillante y se transfirieron con un asa de 3mm a tubos con caldo para enriquecimiento de coliformes (EC) marca Himedia® M127 previamente temperado. Se incubaron a 43°C durante 24 horas. Se registraron los tubos con gas y se llevaron los resultados a la tabla de NMP y se expresaron como NMP coliformes fecales.mL^{-1} de leche cruda.

Para cuantificar la presencia de *E. coli* se sembró por estrías con asa de platina muestras de aquellos tubos que resultaron positivos en caldo EC en placas de Petri con Agar EMB-Levine marca Himedia® M022 estéril y se incubaron a 37°C por 24 horas. Se registraron como positivas aquellas diluciones en donde se observó crecimiento característico de *Escherichia coli* (colonias pequeñas de color verde metálico brillante, con el centro negro azulado). Seguidamente se procedió a seleccionar colonias características color violeta oscuro o negro con o sin brillo verde metálico y se repicaron en tubos con agar nutritivo para la obtención del cultivo puro, a partir de este se realizó una tinción de Gram a fin de observar pureza y morfología.

Diseño del experimento y análisis estadístico

El estudio se realizó bajo un diseño de bloques al azar, donde los tratamientos se organizaron en arreglo factorial (2x2) siendo el factor A el sistema de ordeño (Manual y Mecánico) y el factor B la condición de secado de los pezones en la rutina de ordeño (Secado y Sin Secado), con seis repeticiones. En cada sistema de ordeño, el grupo de vacas se dividió en dos subgrupos para la aplicación del factor secado, y se evaluó la interacción de los factores. Previo a realizar el análisis de varianza (ANAVA) se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para corroborar la normalidad de los errores o residuos y la prueba de Levene para la homogeneidad de varianza de los datos de aerobios mesófilos. Se realizó el respectivo ANAVA y los efectos se analizaron por la prueba de Tukey a 5% de probabilidad. Se empleó el programa estadístico InfoStat Versión 2018 (Di Rienzo *et al.*, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la cuantificación de bacterias coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) *y E. coli* los datos siguieron una distribución normal según la prueba de Shapiro-Wilk y presentaron homogeneidad de varianza de acuerdo a la prueba de Levene. En el análisis de varianza realizado para la población de coliformes totales, se encontró diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para los tipos de ordeño evaluados y la aplicación de secado.

Para la finca 1, se encontró el resultado más alto de coliformes totales (Figura 1), el cual correspondió a 6,20 Log_{10} NMP coliformes totales.mL^{-1} siendo estadísticamente diferente al obtenido en la finca 2, que

fue de 5,76 Log_{10} NMP coliformes totales.mL^{-1}. Los resultados corroboran los problemas de higiene que posee la unidad de producción con ordeño mecánico, que seguramente condicionan la contaminación del equipo, lo que afecta considerablemente la calidad de la leche.

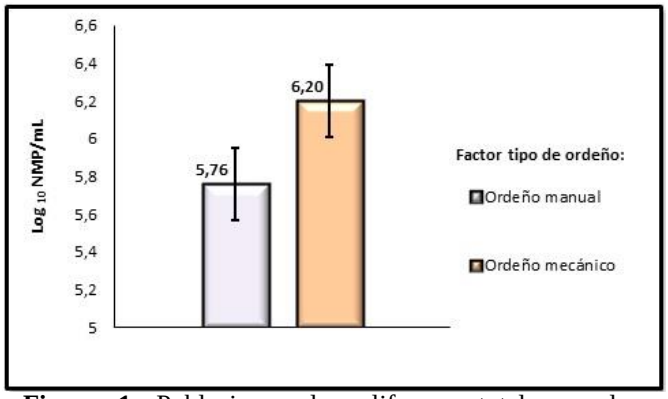

Figura 1. Poblaciones de coliformes totales en las muestras de leche bovina según los tipos de ordeño.

Al respecto, Vázquez *et al.* (2014) y Zucali *et al*. (2016), señalan que el contenido promedio de coliformes, está vinculado a la higiene de la ubre de la vaca y la eficacia de la higienización del equipo de ordeño, especialmente del grado de limpieza de las máquinas, utensilios y de la correcta higiene durante la extracción.

Por otra parte, Gaviria (2007), Svennersten-Sjaunja y Petterson (2008) y Gonzales (2015) indican que el uso de tecnologías puede mejorar en mucho la calidad higiénico sanitaria de la leche; sin embargo, es una realidad que aunque su uso permite ciertas bondades como rutinas más consistentes y mejor estimulación durante el ordeño que proporciona una adecuada eyección de la leche, el buen rendimiento de estos sistemas mecanizados dependerá del nivel de higiene mantenido, ya que se puede convertir en un factor contaminante que va en detrimento de la calidad de la leche al estar la superficie del equipo en contacto directo constante con la misma.

Rojas *et al.* (2014) realizaron un estudio donde se evaluó poblaciones de microorganismos presentes en la leche según el manejo del ordeño, encontraron para coliformes totales en el ordeño mecánico con apoyo del becerro un resultado de 4,23 Log_{10} UFC.mL^{-1}, diferente estadísticamente del resultado obtenido para el ordeño manual el cual correspondió a 3,93 Log_{10} UFC.mL^{-1}, lo cual coincide con el presente estudio al obtener en el ordeño con equipo mecánico la población de coliformes totales más elevada.

En otro orden de ideas, el factor aplicación de secado mostró diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0{,}01$). La omisión de este paso en la rutina de ordeño (Figura 2), demostró la población más elevada de coliformes totales en las muestras de leche, la cual fue de 6,36 Log_{10} UFC.mL^{-1} mientras que con el correcto secado de los pezones de cada animal se obtuvo un resultado de 5,60 Log_{10} NMP coliformes totales.mL^{-1}.

Por lo antes expuesto es imperativo destacar la repercusión que proporciona el realizar el secado de los pezones de las vacas en los sistemas de producción lecheros, como el método más sencillo para disminuir los recuentos de microorganismos en la leche.

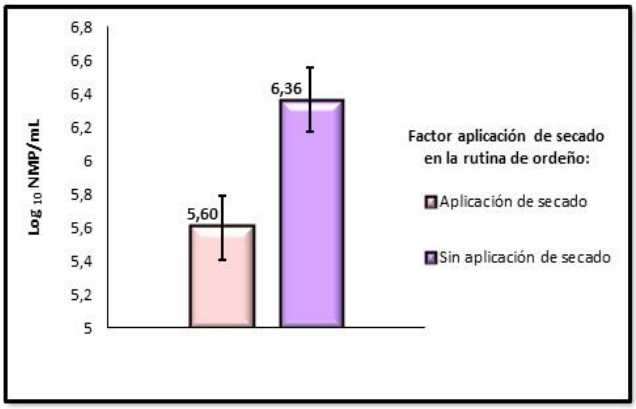

Figura 2. Poblaciones de coliformes totales en las muestras de leche bovina según la aplicación de secado en la rutina de ordeño.

Da Silva *et al.* (2016) y Duque (2007), señalan que independientemente del sistema de ordeño utilizado, si los pezones son lavados con agua deben secarse muy bien, afirman que de esto depende prácticamente todo el engranaje de la producción por el aumento de la carga microbiana que propicia la humedad y, si se agrega que las prácticas de higiene son deficientes, se afectará gravemente el rendimiento de cualquier unidad de producción.

En concordancia con esta investigación, en estudios realizados por Méndez y Osuna (2007) para el secado de pezones observaron diferencias significativas ($p \leq 0{,}05$) entre los promedios en el recuento de coliformes, se obtuvo mayor resultado para los sistemas productivos que no secan, el cual correspondió a 5,13 Log_{10} UFC.mL^{-1}, respecto a los que si practican secado el cual fue de 4,89 Log_{10} UFC.mL^{-1}. Aclaran que en el secado de los pezones resulta indispensable la realización de esta práctica de manera correcta para reducir estos microorganismos que contaminan la leche.

De manera similar, Kruze (1998) suscribe que el secado y el recuento de coliformes presentan una correlación significativa al 5% de probabilidad, menciona que la piel húmeda aporta muchas más bacterias coliformes que la piel seca, por consiguiente el ordeño de pezones húmedos aumenta el riesgo de infección intramamaria y contaminación de las pezoneras; además, aclara que el uso

de una toalla de papel individual es la mejor manera para reducir la fuente de transmisión.

Por otra parte, los análisis de varianza aplicados para las poblaciones de coliformes fecales y *E. coli*, indicaron diferencia estadística significativa a nivel de 5% de probabilidad, únicamente para la aplicación de secado. La omisión de esta práctica como parte de la higiene antes del ordeño afectó la calidad de las muestras de leche bovina al obtenerse poblaciones de coliformes fecales y *E. coli* significativamente más elevadas (Figura 3), correspondiendo a 6,07 Log_{10} NMP coliformes fecales.mL^{-1} y 6,03 Log_{10} NMP *Escherichia coli*.mL^{-1} respectivamente, mientras que las poblaciones resultantes con aplicación de secado fueron de 5,49 Log_{10} NMP coliformes fecales.mL^{-1} y 5,44 Log_{10} NMP *Escherichia coli*.mL^{-1}.

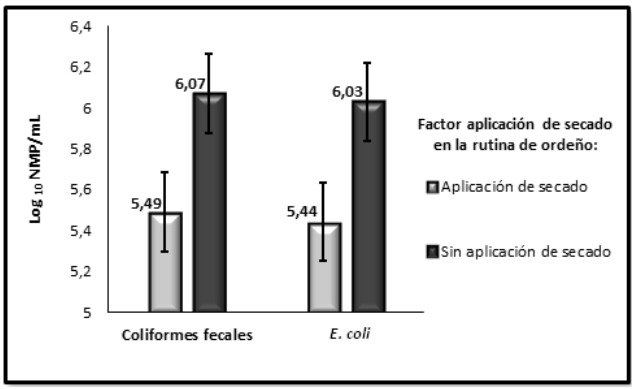

Figura 3. Poblaciones de coliformes fecales y *E. coli* presentes en las muestras de leche bovina según la aplicación de secado en la rutina de ordeño.

Estos resultados demuestran que el proceso de secado es un factor determinante de la carga bacteriana de la leche, el no adoptar este paso pone en riesgo de contaminación o infección intramamaria a los animales, ya que favorece al aumento de las poblaciones de coliformes fecales y *E. coli* presentes en la leche, indistintamente del sistema de ordeño utilizado.

Morales *et al*, (2012) y Mariscal y Gutiérrez (2013), indican que los coliformes son utilizados como microorganismos indicadores, su presencia implica prácticas sanitarias y de higiene deficientes; además, son responsables de pérdidas económicas a los productores debido al deterioro que ocasionan al degradar la lactosa en ácido láctico a través de la fermentación que da como resultado un sabor indeseable en la leche. Por otro lado, afirman que altos niveles de *E. coli* en la leche pueden indicar la presencia de otras bacterias patógenas, aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas y viven en el intestino de animales y humanos sanos; no obstante, algunas cepas son capaces de producir infecciones severas.

En una investigación realizada por Gibson *et al*. (2008) observaron diferencias significativas a 5% de probabilidad, entre varios tratamientos de higiene pre-ordeño para reducir la carga microbiana de los pezones, las fincas evaluadas realizaban limpieza en seco donde encontraron poblaciones de coliformes fecales de 2,01 Log_{10} UFC.mL^{-1} y de *E. coli* 0,30 Log_{10} UFC.mL^{-1}, mientras que al practicar lavado y secado de los pezones se obtuvo 0,72 Log_{10} UFC.mL^{-1} para coliformes fecales y 0,15 Log_{10} UFC.mL^{-1} de *E. coli*. Concluyeron que de todos los tratamientos, el lavado a base de cloro y luego secado es el mejor tratamiento para reducir la carga microbiana, destacan la importancia que tienen regímenes de higiene pre-ordeño para reducir el riesgo de contaminación de la leche. Estos promedios fueron inferiores a los obtenidos en este ensayo.

El recuento de coliformes es especialmente importante dado que ciertas bacterias de este grupo son capaces de causar serias enfermedades en humanos (Méndez y Osuna, 2007). En Venezuela no existen normativas para regular las poblaciones de coliformes presentes en leche cruda bovina, Farías *et al.* (2014) y Wanjala *et al.* (2018) mencionan por ejemplo que en Brasil si hay límites máximos establecidos para la leche cruda, que corresponden a 4,0 Log_{10} NMP.mL^{-1} de coliformes totales y 2,0 Log_{10} NMP.mL^{-1} para coliformes fecales; por otra parte, en la Unión Europea el límite para coliformes es de <100 UFC.mL^{-1}, lo cual es de notarse que los resultados obtenidos en la presente investigación están muy por encima.

La presencia de estas bacterias refleja directamente las condiciones higiénicas del ordeño, determinarlas resulta un instrumento útil para evaluar los procedimientos antes, durante y después del ordeño y también supervisar el estado de salud de los animales, lo que permitirá a los productores realizar diagnósticos e implementar acciones preventivas o correctivas necesarias para mejorar el rendimiento de las unidades de producción lecheras (Ortiz, 2014).

Finalmente es de considerar que cada parte del proceso de ordeño estará estrictamente ligado a la presencia de bacterias que pueden ser perjudiciales, por tanto es determinante establecer la metodología más eficiente en la rutina de ordeño que pueda adaptarse a las capacidades de cada sistema de producción y lograr alcanzar la inocuidad.

CONCLUSIONES

El sistema de ordeño manual presentó la menor población de coliformes totales (5,76 Log_{10} NMP.mL^{-1}) diferentes estadísticamente al ordeño mecánico (6,20 Log_{10} NMP.mL^{-1}).

Las poblaciones de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* disminuyeron significativamente con la aplicación de la práctica de secado de los pezones antes del ordeño.

LITERATURA CITADA

Alfaro, M., Hurtarte, A. y Valle, R. 2014. Implementación de un manual de ordeño higiénico en dos establecimientos lecheros y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en el departamento de Sonsonate, El Salvador. [Tesis de Grado Licenciado en Medicina Veterinaria y Zootecnia] [San Salvador, El Salvador] Universidad de El Salvador.

Cedeño, D., Vera, L., Gavilanes, P., Saltos, J., Loor, R., Zambrano, J., Demera, F., Almeida, A. y Moreira, J. 2015. Factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda comercializada en Calceta-Bolívar-Manabí, Ecuador. Av. Inv. Agrop, 19(3): 37-54.

Chahine, M. 2014. La higiene en el ordeño. [Internet]. [Citado 2019 Junio 2]. Disponible en: http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11541/articulos-rumiantes-archivo/la-higiene-en-el-ordeno.html

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1983. Leche y productos lácteos métodos para la toma de muestras. Fondo para la Normalización N°938. Caracas, Venezuela, p. 17.

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1993. Leche Cruda (903). Fondo para la Normalización N° 903. Caracas, Venezuela, p. 8.

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1996. Determinación del número más probable de coliformes, coliformes fecales y *E. coli*. Segunda revisión (1104). Informe de Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas, Venezuela. 12p.

Da Silva, S., Kanugala, K. y Weerakkody, N. 2016. Microbiological quality of raw milk and effect on quality by implementing good management practices. Proc. Food Sci, 6: 92-96.

Di Rienzo, J., Casanoves, F., González, I., Tablada, E., Díaz, M., Robledo, C. y Balzarini, M. 2018. InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: http://www.infostat.com.ar

Duque, L. 2007. Procedimientos recomendados para un buen ordeño. Olivera M. Buenas prácticas de producción primaria de leche. Editorial Biogénesis, Medellín, Colombia, pp. 93-96.

FAO (Food and Agriculture of the United Nations). 2011. Guía de buenas prácticas en explotaciones lecheras. Informe de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, p. 40.

Farias, C., Machado, F. y Alves, M. 2014. Qualidade microbiológica do leite cru in natura, leite cru refrigerado e leite pasteurizado comercializados na região de Uberlândia. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, 9(4): 250-254.

García, A., Rivero, J., Gonzales, P., Valero, K., Izquierdo, P., García, A. y Colmenares, C. 2009. Calidad bacteriológica de la leche cruda de cabra producida en la parroquia Faría, municipio Miranda, estado Zulia, Venezuela. Rev. Fac. Agron, 26(1): 59-77.

Gaviria, B. 2007. Calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda. En: Olivera M. Buenas prácticas de producción primaria de leche. Editorial Biogénesis, Medellín, Colombia,115–122 p.

Gibson, H., Sinclair, L., Brizuela. C., Worton, H. y Protheroe, R. 2008. Effectiveness of selected premilking teat-cleaning regimes in reducing teat microbial load on commercial dairy farms. Lett Appl Microbiol. 46(3): 295-300.

Gonzales, P. 2015. Manual de buenas prácticas de ordeño. Cáritas del Perú, Callao, Perú, p. 34.

INAMEH (Instituto Nacional De Meteorología E Hidrología, Venezuela). 2016. Estadísticas de precipitación estadal [Internet]. [Citado 2019 Mayo 30]. Disponible en: http://www.inameh.gob.ve/web/

INTI (Instituto de Tecnología Industrial). 2019. Calidad bacteriológica de la leche cruda: Limpieza de la máquina de ordeño y el tanque. Informe del Instituto Nacional de Tecnología Industrial, Buenos Aires, Argentina, p. 7.

Kruze, J. 1998. La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. Revista electrónica de investigación Veterinaria, 30(2): 24-37.

Mariscal, I. y Gutiérrez, M. 2013. Características microbiológicas de leche cruda de vaca en mercados de abasto de Trinidad, Bolivia. Agrociencias Amazonia, 1(2): 18-24.

Martínez, M. y Gómez, C. 2013. Calidad composicional e higiénica de la leche cruda recibida en industrias

lácteas de Sucre – Colombia. Rev. BSAA, 11(2): 93-100.

Martínez R, T.J., Hernández, L., Escobar, M., Amaro, R. y Blanco, M. 2011. Mejora continua de la calidad higiénico-sanitaria de la leche de vaca. Informe de Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México, p. 63.

Méndez, V. y Osuna, L. 2007. Caracterización de la calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda en algunos sistemas productivos de la región del Alto del Chicamocha, Departamento de Boyacá. [Tesis de grado Médico Veterinario]. [Bogotá, Colombia] Universidad de la Salle.

Morales, A., Leyva, G. y Ybarra, M. 2012. Calidad bacteriológica de leche cruda de cabra producida en Miravalles, Puebla. Rev. Mex. Ing. Quím, 11(1): 11-20.

Munera O. 2017. Identificación de factores relacionados con la calidad higiénica y sanitaria de la leche en tanque en predios con ordeño mecánico del Norte de Antioquia. [Tesis de maestría]. [Medellín, Colombia] Universidad de Antioquia.

Ortiz, T. 2014. Evaluación de la calidad higiénica, sanitaria e inocua, de la leche de tanque en hatos lecheros del oriente y norte de Antioquia. [Tesis de Grado Zootecnista]. [Medellín, Colombia] Universidad Nacional y a Distancia.

Reyes, G., Molina, B. y Coca, R. 2010. Calidad microbiológica de la leche cruda. En: primer foro sobre ganadería lechera de la zona alta de Veracruz, pp. 78-88.

Riquelme, N. y Bonifaz, N. 2012. Caracterización de sistemas de producción lechera de Ecuador. La Granja, 15(1): 55-68.

Rojas, M., Cruz, E., Daniel, I. y Lammoglia, M. 2014. Determinación de la calidad microbiológica de la leche cruda de vaca durante la temporada invernal en Tuxpan, Veracruz. Academia Journals Tuxpan, 2(12): 1107-1111.

Siqueira, T., Giaciani, M., Junqueira, M., García, R., Paganini, F., Vieira, A., García da Silva, M. 2014. Resistência antimicrobiana em coliformes totais isolados de tanques de refrigeração de leite bovino. Atlas de saúde ambiental ASA, 2(3): 2-15.

Svennersten-Sjaunja, K. M., Petterson, G. 2008. Pros and cons of automatic milking in Europe. J Anim Sci, 86(13): 37-46.

Vásquez, E., Pérez, E., Hurtado, L., Alcántara, L. 2014. Evaluación de la calidad microbiológica de la leche. Rev. Iberoamericana de Ciencias, 1(3): 91-99.

Wanjala, W., Nduko, J., Mwende, M. 2018. Coliforms contamination and hygienic status of milk chain in emerging economies. Journal of Food Quality and Hazards Control, 5: 3-10.

Zucali, M., Battelli, G., Battini, M., Bava, L., Decimo, M., Mattielo, S., Povolo, M. y Brasca, M. 2016. Multi-dimensional assessment and scoring system for dairy farms. Italian Journal of Animal Science, 15(3): 492-503.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

INHIBICIÓN DE *Streptococcus mutans* CON EXTRACTOS DE *Rubus ulmifolius, Passiflora mollissima* Y *Vaccinium floribundum*

INHIBITION OF *Streptococcus mutans* WITH EXTRACTS OF *Rubus ulmifolius, Passiflora mollissima* AND *Vaccinium floribundum*

Stalin Gustavo Santacruz Terán y Rudy Gissella Tagle González

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, vía a San Mateo s/n, Manta, Ecuador

Email: stalin.santacruz@gmail.com

Información del artículo

Tipo de artículo:
Artículo original

Recibido:
05/08/2020

Aceptado:
27/11/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA
11(2):75-79

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.220

Resumen

Es conocido que el consumo excesivo de azúcares conlleva al desarrollo de caries dental y obesidad, entre otras enfermedades. Conociendo que algunos de los compuestos fenólicos tienen carácter antimicrobiano, en el presente estudio se evaluó la actividad antimicrobianan *in vitro* de mora (*Rubus ulmifolius),* taxo *(Passiflora mollissima)* y mortiño (*Vaccinium floribundum*) en concentraciones de 1, 2, 3% frente a *Streptococcus mutans,* microorganismo responsable del desarrollo de caries dental, mediante el método de difusión con discos. El efecto de la adición de fruta a leche entera que proporciona el Programa de Alimentación Escolar se evaluó mediante análisis sensorial con la adición de taxo y mortiño al 1%. Los resultados mostraron que extractos de mora, mortiño y taxo presentaron un halo de inhibición promedio a las 24 h de 1,34, 1,42, y 1,57 cm y a las 48 h 1,31, 1,40 y 1,46 cm, respectivamente. Mortiño y taxo tuvieron igual actividad inhibitoria ($p<0,05$). Los extractos con concentraciones diferentes mostraron que la concentración de 3% presentó una mayor zona de inhibición con respecto a 1 y 2%, siendo estas dos últimas estadísticamente iguales. Los resultados del análisis sensorial mostraron que la leche saborizada con mortiño tuvo mayor aceptación, con una calificación de “me gusta mucho” en una escala hedónica de 5 puntos, concluyendo que es la fruta recomendada para utilizar como saborizante en leche, sabiendo además que tiene alto poder inhibitorio frente al *S. mutans*.

Palabras clave: caries dental, actividad antimicrobiana, leche saborizada, poder inhibitorio

Abstract

It is known that excessive consumption of sugars leads to tooth decay and obesity, among other diseases. Some phenolic compounds have an antimicrobial character. In this study, the antimicrobial activity of blackberry (*Rubus ulmifolius*), taxa (*Passiflora mollissima*) and mortiño (*Vaccinium floribundum*) was evaluated in vitro in concentrations of 1, 2, 3% against Streptococcus mutans, a microorganism responsible for the development of dental caries. The method of diffusion with discs was used. The effect of fruit addition to whole milk provided by the School Feeding Program was evaluated by sensory analysis with the addition of taxo and mortiño at 1%. The results showed that blackberry, mortiño and taxo extracts presented an average inhibition halo at 24h of 1.34, 1.42, and 1.57 cm and at 48h of 1.31, 1.40 and 1.46 cm, respectively. Mortiño and taxo had equal inhibitory activity ($p<0.05$). The extracts with different concentrations showed that the concentration of 3% presented a greater inhibition zone with respect to 1 and 2%, being these last two statistically equal. The results of the sensory analysis showed that the mortiño-flavored milk had the greatest acceptance, with a classification of "*I like it very much*" in a 5-point hedonic scale. In conclusion, mortiño is the recommended fruit to use as milk flavoring, added to the fact that it also has high inhibitory power against *S. mutans.*

Keywords: dental caries, antimicrobial activity, flavored milk, inhibitory power

INTRODUCCIÓN

La caries dental es uno de los padecimientos de salud más habituales en todo el mundo (GBDS, 2018). Según la OMS, la población más propensa a sufrir problemas son los niños de edad escolar, encontrándose que entre el 60% y el 90% de este grupo se ven afectados (Pérez-Domínguez *et al.*, 2010).

La dieta desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la caries dental. Muchos estudios epidemiológicos correlacionan el consumo de azúcar con la prevalencia de caries (Freire *et al.*, 2016). Dentro del coctel de microorganismos responsables de la caries dental destaca el *Streptococcus mutans* (Arreguín-Cano *et al.*, 2016).

Actualmente Ecuador a través de programas de alimentación escolar ofrece alimentos sólidos como galletas o granola y bebidas como leche saborizadas (PAE, 2017). En su información nutricional, la leche ofrecida por el programa de alimentación escolar (PAE) describe un contenido de 14 g de azúcar por cada 200 g de bebida. De acuerdo a este último valor no existe problema en el contenido de azúcar, sin embargo, hay que considerar el consumo de otros alimentos azucarados consumidos durante el día. El azúcar total consumido por un niño con el programa de alimentación escolar es de aproximadamente 24 gramos (barra de cereales 2,5 g, galletas 7 g, leche saborizada 14 g). La OMS recomienda una ingesta diaria de 50 g de azúcares en niños y 25 g si se desea obtener beneficios adicionales (Ruiz y Varela, 2017). Indudablemente, el azúcar total consumido por niños en edad escolar favorece el desarrollo de caries dentales (Duque de Estrada *et al.*, 2006; Cid *et al.*, 2008)

Además de su actividad antioxidante establecida, muchos compuestos fenólicos pueden exhibir una actividad antibacteriana significativa (Orhan *et al*., 2010; Lou *et al*., 2012). Dado que muchos extractos de plantas son ricos en compuestos fenólicos, esto es de particular interés para el desarrollo de alternativas naturales a los conservantes sintéticos en alimentos (Bouarab-Chibane *et al.*, 2019), aplicaciones cosméticas (Kocevar y Lunder, 2018) y aplicaciones en medicina. Dentro de la odontología, Reyes *et al.* (2019a, 2019b) encontraron que los extractos de *Prunus salicifoica* y *Vaccinium floribundum* presentaron actividad inhibitoria contra *S. mutans.*

Los mecanismos de acción antibacteriana de los compuestos fenólicos aún no están completamente descifrados, pero se sabe que estos compuestos involucran muchos sitios de acción a nivel celular (Bouarab-Chibane *et al.*, 2019). Varios autores explican esta actividad por la modificación de la permeabilidad de las membranas celulares, los cambios en diversas funciones intracelulares inducidos por la unión del hidrógeno de los compuestos fenólicos a las enzimas o por la modificación de la rigidez de la pared celular con pérdidas de integridad por diferentes interacciones con la membrana celular. (Cushnie y Lamb, 2011).

Vasco (2009), mostró que frutas cultivadas en el Ecuador poseen un alto contenido de compuestos fenólicos, tal es el caso de la mora (*Rubus ulmifolius)*, taxo *(Passiflora mollissima)* o mortiño (*Vaccinium floribundum)*, estas frutas están disponibles en el mercado ecuatoriano, pero debido a una falta de conocimiento actual su consumo es relativamente bajo, tanto como fruta así como en el desarrollo de productos de valor agregado, desaprovechando así sus posibles beneficios medicinales y funcionales.

Con base en la información previa, la presente investigación estudió el uso de extractos de mora, taxo y mortiño como inhibidores del desarrollo de *Streptococcus mutans*. Adicionalmente, se analizó la aceptabilidad de leches saborizadas preparadas con extractos de las tres frutas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La leche empleada en el estudio fue leche entera UHT del Programa de Alimentación Escolar. La mora y taxo fueron adquiridas en el mercado de la ciudad de Manta, mientras que el mortiño se obtuvo de un mercado la ciudad de Quito.

Las frutas fueron sometidas a un proceso de selección para retirar las frutas que presentaron daños físicos, así como cualquier impureza. Las frutas seleccionadas se lavaron con agua potable, para posteriormente desintegrar 250 g de fruta con ayuda de una licuadora doméstica (Oster SW194DT, Reino Unido). La pulpa desintegrada se filtró en una tela gabardina lisa 6 oz crudo (Telasxmetro, Argentina), eliminándose el material sólido. El material filtrado (extracto) se mezcló con leche entera para obtener porcentajes de extracto de 1, 2, 3% en la leche final (leche saborizada).

Análisis de inhibición *in vitro* de *Streptococcus mutans*

Se utilizó el método de difusión en agar según la técnica estandarizada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2015). La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó en cepas de S*treptococcus mutans ATCC35668* (Minnesota, USA laboratorio Microbiologics). Para preparar el inóculo, las cepas liofilizadas fueron activadas en caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth C5141 Criterion, USA), luego sembradas en cajas Petri con 20 mL de medio de cultivo agar sangre a 37 ºC durante 48 h. Una vez activados los microorganismos en estudio, se preparó una suspensión bacteriana al 0,5 en la escala de Mc Farland (Santacruz and Castro, 2018), que representa una concentración de 1,5 x 10^8 UFC, misma que se inoculó en cajas Petri con agar sangre. Posteriormente, se colocó en las cajas Petri discos de papel filtro (Fisher Scientific Q2) de 5 mm de diámetro, que contenían 20 µL de leche saborizada, previamente preparada en tres concentraciones más una

muestra control (leche no saborizada). Las placas inoculadas se incubaron a una temperatura de 37°C durante 2 días, luego de lo cual se midió la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. En todos los casos la evaluación se realizó por triplicado.

Análisis de evaluación sensorial

Con base en los resultados del análisis de inhibición, se preparó leche saborizada de las frutas a concentración del 1%. Las leches saborizadas conjuntamente con la muestra control (leche no saborizada) se utilizaron en un análisis sensorial que permitió determinar la leche saborizada con mayor aceptación. Para ello se realizó una prueba de satisfacción con una escala hedónica de cinco puntos que fue de "me disgusta mucho" a "me gusta mucho", misma que permitió establecer el nivel de agrado de las muestras (Gaytán-Andrade *et al.*, 2019). Para la prueba se contó con 40 panelistas no entrenados.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo bifactorial (3x3+1), utilizando como control una leche entera no saborizada. Las variables independientes fueron el tipo de fruta, en 3 niveles, (mora, mortiño y taxo) y la concentración del extracto de fruta, en 3 niveles (1, 2 y 3%). La variable dependiente fue la zona de inhibición de *S. mutans.*

Análisis estadístico

El análisis de los resultados se realizó mediante análisis de varianza y prueba de medias de Tukey con un nivel de significancia del 5% mediante el programa estadístico Infostat Versión 2015.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de inhibición *in vitro* de *Streptococcus mutans*

El cuadro 1 muestra que la muestra control no presentó inhibición, mientras que la leche con 3% de extracto de fruta fue estadísticamente diferente y presentó mayor inhibición (diámetro de 1,58 cm) que las muestras con otras concentraciones de fruta, luego de 24 h de estudio ($p<0,05$). El mismo comportamiento se observó a las 48 h. No existió diferencia estadística entre las concentraciones de 1 y 2%. Análisis de inhibición de *S. mutans* fueron realizados por Reyes *et al.* (2019a), quienes encontraron zonas de inhibición entre 0,83 y 1,73 cm por acción de extractos de mortiño y Reyes *et al.* (2019b) zonas de 0,88 cm, por acción de extracto de mortiño deshidratado. Dichos valores son similares a los obtenidos en el presente trabajo.

Cuadro 1. Comparación de medias de la zona de inhibición de *S. mutans* luego de 24 y 48 h frente extractos de mora, mortiño y mora en concentraciones de 1, 2 y 3%

Concentración (%)	Zona de inhibición	
	24 h (cm)	48 h (cm)
0	$0,00^{A}$	$0,00^{A}$
1	$1,37^{B}$	$1,32^{B}$
2	$1,39^{B}$	$1,35^{B}$
3	$1,58^{C}$	$1,51^{C}$

Medias con una letra superíndice común no son significativamente diferentes ($p<0,05$)

Los resultados de inhibición respecto al tipo de fruta mostraron que no existió diferencia en las zonas de inhibición luego de 24 y 48 h de incubación. El control mostró diferencia con todos los tratamientos ($p<0,05$). Las zonas de inhibición de mora y mortiño fueron iguales, con medias de 1,34 y 1,42 cm, respectivamente, luego de 24 h de incubación (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de medias de la zona de inhibición del *S. mutans* luego de 24 y 48 h frente al tipo de fruta

Fruta	Zona de inhibición	
	24 h (cm)	48 h (cm)
Control	$0,00^{A}$	$0,00^{A}$
Mora	$1,34^{B}$	$1,31^{B}$
Mortiño	$1,42^{B, C}$	$1,40^{B, C}$
Taxo	$1,57^{C}$	$1,46^{C}$

Medias con una letra superíndice común no son significativamente diferentes ($p<0,05$)

Los resultados mostraron mayores halos de inhibición para taxo y mortiño lo que indica una mayor actividad inhibitoria sobre la cepa de *S. mutans* por parte de estas dos frutas en relación a la mora. Vasco (2009) ubica al mortiño y al taxo como frutas con alto contenido de compuestos fenólicos. Posiblemente la presencia de flavonoides (Rodríguez *et al.*, 2017) conjuntamente con la alta concentración de compuestos fenólicos podrían contribuir con el poder inhibitorio de *S. mutans*.

Análisis de evaluación sensorial

Los resultados de inhibición *in vitro,* mostraron que las frutas con mayor efecto inhibitorio frente a *S. mutans* fueron taxo y mortiño. La concentración de extracto escogida, con mayor poder inhibitorio sobre la bacteria, para saborizar la leche, fue del 1%, esto con el objeto de no modificar la formulación original de la leche del PAE.

Los resultados de la prueba de comparación de medias mostraron que las tres muestras presentaron diferencias significativas entre sí (Cuadro 3). La muestra de mortiño presentó una media de 4,32, que corresponde a "me gusta moderadamente". La muestra control (no saborizada) presentó una media de 3,17 que equivale "me es

indiferente" y la muestra saborizada con taxo obtuvo una media de 2,93 que correspondió a "me disgusta un poco". Con base en los resultados se pudo concluir que a pesar de que el taxo tuvo el mayor poder de inhibición frente a *S. mutans*, no se recomienda su uso como saborizante de leche por su bajo nivel de agrado.

Cuadro 3. Comparación de medias de evaluación sensorial de leche saborizada con extractos de taxo y mora en concentración de 1%

Bebida	Calificación
Leche + taxo	$2{,}93^{A}$
Leche control	$4{,}17^{B}$
Leche + mortiño	$4{,}32^{C}$

Medias con una letra superíndice común no son significativamente diferentes ($p<0{,}05$)

CONCLUSIONES

Los análisis microbiológicos *in vitro* mostraron que la fruta que presentó mayor poder inhibitorio frente a *S. mutans* fue el taxo, seguida del mortiño y finalmente la mora. Las concentraciones de extracto de fruta de 1 y 2% presentaron un igual poder inhibitorio y a la vez menor a l3%. El análisis de aceptabilidad dio como resultado que la mezcla leche-mortiño tuvo la mayor aceptación, con una calificación de "me gusta moderadamente".

LITERATURA CITADA

Arreguín-Cano, J., Gerónimo, C., Bermúdez, C., Ostia, M., Ventura, J., Álvarez, C., González, Z. y Gutiérrez-Venegas, G. 2016. Caries dental y microorganismos asociados a la caries en la saliva de los alumnos del primer año de la Facultad de Odontología, UNAM. Revista Odontológica Mexicana 20(2):77-81

Bouarab-Chibane, L., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J., and Oulahal, N. 2019. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. Journal of the Science of Food and Agriculture 99:1457-1474.

Cid, M., Martínez, I. y Morales, J. 2008. Ingestión de azúcares en niños menores de 1 año. Revista Médica Electrónica 28(1):113-116.

Cushnie, T. and Lamb, A. 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents 38:99–107.

Duque de Estrada, J., Pérez, J. y Hidalgo, I. 2006. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Revista Cubana de Estomatología 43(1).

Freire, A., Farfán, A. y Chuquimarca, B. 2016. Elevado consumo de azúcares y caries asociados a cepillado dental en niños de Centros Infantiles del Buen Vivir (CIBVs) de Quito. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Quito) 41(1):21-30

Gaytán-Andrade, J., Salas, S., López, L., Cobos, P. y Silva, B. 2019. Desarrollo y Evaluación Sensorial De Un Postre de Gelatina Funcional Del Fruto Rojo de Stenocereus queretaroensis (F.A.C. Weber) Buxbaum. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos 4:576-580

GBDS (Global Burden of Disease Study). 2018. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet 392: 1789–8583

Kocevar Glavac, N., and Lunder, M. 2018. Preservative efficacy of selected antimicrobials of natural origin in a cosmetic emulsion. International Journal of Cosmetic Science 40: 276–284.

Lou, Z., Wang, H., Rao, S., Sun, J., Ma, C. and Li, J. 2012. p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. Food Control 25: 550–554.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). 2015. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. National Committee for Clinical Laboratory Standards 35:17-22.

Orhan, D., Özçelik, B., Özgen, S. and Ergun, F. 2010. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. Microbiological Research 165: 496–500.

PAE (Programa de Alimentación Escolar). 2017. Ministerio de Inclusión Económica y Social, Quito, Ecuador.

Pérez-Domínguez, J., González-García, A., Niebla-Fuentes, M. y Ascencio-Montiel, I. 2010. Encuesta de prevalencia de caries dental en niños y adolescentes Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social. 48(1): 25-29

Reyes, Y., Cruz, V., Castro, M., Santacruz, S., Villacres, C. y Armas, A. 2019a. Efecto antibacteriano de extractos de *Prunus salicifolia* (capulí) y *Vaccinium floribundum* (mortiño) sobre cepas de *Streptococcus mutans*: Estudio *in vitro*. KIRU 16(1): 14-18.

Reyes, Y., Santacruz, S., Castro, M., Villacres, C., Chávez, M. y Armas, A. 2019b. Efecto antibacteriano y antioxidante de frutos rojos ecuatorianos sobre streptococcus mutans: estudio *in vitro. Odontología Vital 31: 23-30.*

Rodríguez, C., Zarate, A. y Sánchez, L. 2017. Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente

a patógenos de importancia clínica en Colombia. NOVA 15(27): 119-129

Ruiz, E. y Varela-Moreiras, G. 2017. Adecuación de la ingesta de azúcares totales y añadidos en la dieta española a las recomendaciones: estudio ANIBES. Nutrición Hospitalaria 34: 45-52.

Santacruz, S. and Castro, M. 2018. Viability of free and encapsulated Lactobacillus acidophilus incorporated to cassava starch edible films and its application to Manaba fresh white cheese. LWT Food Science and Technology 93: 570-572.

Vasco, C. 2009. Phenolic Compounds in Ecuadorian Fruits. Ph.D. Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

INDUCCIÓN DE RESISTENCIA A *Mycosphaerella fijiensis* MORELET Y SU RELACIÓN CON EL RENDIMIENTO DE PLANTAS DE BANANO (Musa AAA) CV. WILLIAMS

INDUCTION OF RESISTANCE TO *Mycosphaerella fijiensis* MORELET AND ITS RELATIONSHIP WITH YIELD OF BANANA PLANTS (Musa AAA) CV. WILLIAMS

Pedro Isaías Terrero Yepez[1,2], Sofia Lorena Peñaherrera Villafuerte[3], Antonio Javier Bustamante Gonzales[4], Galo Alexander Cedeño García[5], Ronel Fernando Solórzano Alcívar[6], George Alexander Cedeño García[7]

[1]Instituto de Posgrado de la Universidad Técnica de Manabí, Av. José María Urbina, Portoviejo, Manabí,Ecuador
[2]Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario - AGROCALIDAD, Guayaquil, Guayas, Ecuador
[3]Estación Experimental Tropical Pichilingue, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Departamento de Protección Vegetal km 5 vía Quevedo-El Empalme, Cantón Mocache, Los Ríos, Ecuador
[4]Estación Experimental Tropical Pichilingue, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Programa Nacional de Banano, Plátano y otras Musáceas, km 5 vía Quevedo-El Empalme, Cantón Mocache, Los Ríos, Ecuador
[5]Carrera de Ingeniería Agrícola, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, sector El Gramal, Calceta, Manabí, Ecuador
[6]Ministerio de Agricultura y Ganadería - MAG, Quito, Pichincha, Ecuador
[7]Departamento de Agronomía, Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, km 13 ½ vía Portoviejo - Santa Ana, Santa Ana, Manabí, Ecuador

Email: correo@insitucional.com

Información del artículo

Tipo de artículo:
Artículo original

Recibido:
05/08/2020

Aceptado:
01/12/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA
11(2):80-87

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.230

Resumen

El banano es ampliamente sembrado en el Ecuador, siendo el producto agrícola más exportado, sin embargo, la producción de la fruta se ve reducida por enfermedades fitosanitarias como la sigatoka negra. Su modo de control principalmente incluye fungicidas de síntesis química que contribuyen a la contaminación del medio ambiente. Por esta razón, se realiza el presente experimento en la zona central del litoral ecuatoriano, cuyo objetivo fue evaluar a nivel de campo, el efecto de sustancias inductoras de resistencia frente a la evolución de la enfermedad de la sigatoka negra en las épocas seca y lluviosa. El experimento se planteó bajo un diseño de bloques aleatorizado, de 5 tratamientos y 4 bloques. Los tratamientos estudiados fueron T1: ácido jasmónico, T2: ácido salicílico, T3: extracto de carophilaceas, más dos testigos, químico (T4) y absoluto (T5). Se midió el índice de infección, área foliar y hojas funcionales, tanto en la floración como a la cosecha. Adicionalmente se evaluó también el peso neto del racimo. Ácido jasmónico y salicílico, mostraron efecto sobre el índice de infección, en las dos épocas de producción estudiadas. En cuanto al peso neto del racimo, ácido salicílico, registró el mejor promedio, en comparación con los otros tratamientos. Finalmente, con este experimento se demostró que estos inductores de resistencia pueden ser implementados en programas de manejo de la enfermedad, así como también para aumentar el rendimiento del cultivo, reduciendo de esta manera el uso de productos químicos cuyo uso indiscriminado crea resistencia y contaminación ambiental.

Palabras clave: Sigatoka negra, inductores de resistencia, ácido jasmónico, ácido salicílico, extracto de carophilaceas

Abstract

Bananas are widely grown in Ecuador, being the most exported crop, however, fruit production is reduced by phytosanitary diseases such as black Sigatoka. Management of this disease includes mostly chemical synthesis fungicides that contribute to environmental pollution. For this reason, this experiment was carried out in the central zone of the ecuadorian coastal region, to evaluate at field level the effect of inducing resistance substances against the evolution of "black Sigatoka" in the dry and rainy seasons. The experiment was deployed in a complete randomized block design, with five treatments and 4 blocks. The treatments studied were T1: Jasmonic acid, T2: Salicylic acid, T3: Carophilaceas extract, plus chemical (T4) and absolute (T5) controls. The infection rate, leaf area and functional leaves were measured at both, flowering and harvest stages. Additionally, net bunch weight was also evaluated. Jasmonic and salicylic acid showed a negative effect on the infection rate in both production periods. In terms of net bunch weight, Salicylic Acid registered the best average, compared to other treatments. Finally, this experiment showed that these resistance inducers can be implemented in disease management programs, as well as to increase crop yield, thus reducing the use of chemical products whose indiscriminate use creates resistance and environmental contamination.

Keywords: Black Sigatoka, resistance inducers, jasmonic acid, salicylic acid, carophilaceas extract

INTRODUCCIÓN

Actualmente en Ecuador se reportan 161 583 ha de banano (Santosh y Tiwari 2019), con un total de 356 825 216 cajas exportad*a*s, representando para el país una importante fuente de ingresos y divisas (Saltos *et al*., 2020). Esto significa, una generación de alrededor 2,5 millones de empleos a personas que se benefician directa e indirectamente en nueve provincias productoras (Briones *et al*., 2019; Harari 2004).

La cantidad de fruta producida hace que el país se ubique como el principal exportador en el mundo, dado que el 30% del banano normalmente comercializado proviene de Ecuador. Esto hace que sea el segundo rubro de mayor importancia económica, manteniéndose hasta la fecha por la elevada cantidad de consumidores a nivel mundial (Briones *et al.*, 2019).

No obstante, a pesar de la cantidad de fruta producida, aún se reportan bajos rendimientos en comparación con nuestros principales competidores en Centro y Sudamérica. Se conoce que uno de los motivos para que la producción se vea afectada, es la enfermedad denominada sigatoka negra, causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, que, desde su ingreso al país en 1987, ha causado grandes pérdidas anuales (Regalado *et al.*, 2019). Aunado a esto, el manejo de la enfermedad se ha tornado cada vez más costoso y difícil de realizar, principalmente debido a que el patógeno tiene la capacidad de desarrollar resistencia a los principales fungicidas utilizados, particularmente los sistémicos (Munir *et al.*, 2020).

Por estas consideraciones, las investigaciones están siendo orientadas, entre otros aspectos, a conocer el efecto de moléculas inductoras de resistencia a la sigatoka negra, del banano. La inducción de resistencia sistémica adquirida (SAR) o resistencia sistémica inducida (ISR), por sus siglas en inglés, en plantas es un concepto ampliamente distribuido con numerosos estudios que avalan su rol como promotoras de resistencia (Cedeño *et al.*, 2017; Mogollón y Castaño, 2011).

En este contexto, se conoce que en las plantas superiores se pueden activar diversos mecanismos de defensa cuando se exponen a diferentes agentes patógenos, como hongos, bacterias, virus, insectos, etc. Estos mecanismos no permiten el desarrollo de la infección del patógeno, cuando la reacción se produce de manera oportuna. Sin embargo, estos procesos ocurren demasiado tarde o se suprimen, la infección del patógeno se lleva a cabo con éxito, lo que conduce al desarrollo de la enfermedad en la planta (Fullerton y Casonato, 2019).

En este contexto, existen tres hormonas que son clave en lo que concierne a la defensa de plantas: ácido salicílico (SA), jasmonato (JA) y etileno (ET) (Hernandez *et al.*, 2019). SA desencadena principalmente la defensa de la planta contra biotróficos o hemibiotróficos, JA contra los patógenos necrotróficos, aunque hay algunas excepciones. SA actúa como uno de los inductores de resistencia sistémica adquirida en la hoja (Patiño *et al.*, 2010), mientras que JA y ET regulan principalmente la resistencia sistémica inducida desencadenada por PGPR (rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas) (Laredo *et al.*, 2017).

SAR se designa como resistencia mediada por el patógeno necrotizante dependiente del ácido salicílico (SA) para la expresión de proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas PR) que desempeña un papel defensivo directo contra los agentes patógenos. SAR difiere de ISR por muchas razones, aunque hay algunas similitudes. Un manejo de la enfermedad en plantas es posible a través de la investigación adecuada de las moléculas de señalización y las moléculas inductoras para la inmunización de las plantas con el fin de inducir la resistencia (Pérez *et al.*, 2009).

La resistencia natural de los vegetales a organismos patógenos es básicamente el efecto combinado de barreras preformadas y mecanismos inducibles en las plantas (Laredo *et al.*, 2017). La utilización indiscriminada y contaminante de fungicidas sintéticos utilizados para el control de sigatoka negra, así como la pérdida de sensibilidad del patógeno hacia las principales moléculas utilizadas para su control, amerita realizar esfuerzos por encontrar productos, que permitan inducir factores de resistencia que contribuyan al desarrollo de una resistencia fisiológica adquirida de las plantas hacia esta y otras enfermedades (Sepúlveda 2016).

Por otro lado, las plantas son organismos, que están obligados a discriminar entre los diferentes retos que les plantea su entorno y responder a ellos. Estas respuestas a su ambiente biótico y abiótico les permiten una mejor distribución de sus recursos para crecer, reproducirse y defenderse, por la presencia de sustancias que son las encargadas de evitar el progreso de la enfermedad (Trinidad-Cruz *et al.*, 2019).

De igual manera una buena nutrición de la planta le brinda las herramientas necesarias para que pueda responder frente al ataque de un patógeno (Vite Cevallos *et al.*, 2020). En base en estos antecedentes, se planteó evaluar a nivel de campo, el efecto de sustancias inductoras de resistencia frente a la evolución de la enfermedad de la sigatoka negra en época seca y lluviosa; esperando inducir los mecanismos de defensa de la planta de banano frente a este problema fitosanitario, así como también sus variables productivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en un lote experimental localizado en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicada en el km 5 vía Quevedo – El Empalme. Se utilizaron vitroplantas de banano cv. Williams de ocho semanas de edad, las cuales se sembraron en campo, en una superficie de 10 707 metros cuadrados, a una altura promedio de 75 msnm, temperatura media de 25ºC, humedad relativa de 87% y una heliófila de 913,73 horas/año. Las coordenadas geográficas son 1º06 Latitud Sur y 79º25 de Longitud Occidental.

El cultivo recibió un adecuado y oportuno manejo agronómico, consistiendo en labores de deshije, cirugías fitosanitarias con una frecuencia semanal, fertilización con base en las recomendaciones del laboratorio de manejo de suelos y aguas de la EET-Pichilingue iniciándose 8 semanas después de la siembra. El control de malezas se realizó en forma manual, mecánica y química. Se implementó también riego, en la época seca con una frecuencia de siete días.

Los tratamientos estudiados fueron T1: ácido jasmónico (166 cc), T2: ácido salicílico (250cc), T3: extracto de carophiláceas (166 cc), más testigos: químico (Aplicaciones de fungicidas siguiendo las recomendaciones de la FRAC) (T4) y absoluto (T5). Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron vía foliar a una frecuencia de 10 días durante la época lluviosa (primer ciclo) y de 20 días en la época seca (segundo ciclo), utilizando una aspersora de presión constante (CP3) de 20 litros mientras las plantas de banano estaban aún pequeñas (100 cm). Cuando las plantas alcanzaron una altura considerable se realizó la aplicación con una aspersora a motor con capacidad de 14 litros. Las aplicaciones se realizaron en horas de la mañana, mientras las condiciones ambientales fueron las adecuadas, es decir sin presencia de lluvias y/o vientos fuertes.

El diseño estadístico utilizado fue Bloques Completos al Azar (DBCA), con 5 tratamientos y cuatro repeticiones cada uno. Cada parcela experimental estuvo conformada por 28 plantas, considerándose únicamente las 10 plantas centrales para el registro de los datos experimentales. Para la comparación de medias entre tratamientos se utilizó la prueba de Tukey al 95 % de confianza.

Variables sanitarias

Índice y promedio ponderado de infección de sigatoka negra a la floración y cosecha: Este parámetro se evaluó mediante la utilización de la escala de Stover modificada por Gauhl (1989); Mulder y Stover (1976), donde es necesario contar con un patrón o modelo que divide la hoja en proporciones porcentuales, permitiendo así determinar el indice de infección, en cada uno de los tratamientos en estudio.

Hojas funcionales: Esta variable se registró utilizando la escala de Stover modificada por Gauhl (1989); Mulder y Stover (1976). Para su efecto, se consideró como hojas funcionales a aquellas que presentaron hasta el grado 3 de la referida escala.

Variables agronómicas

Área foliar funcional a la floración y cosecha: En este caso se utilizó el método del nuevo factor propuesto por Kumar *et al.* (2002), que consiste en multiplicar el largo por el ancho de la tercera hoja por la constante 0,80 por el número de hojas y el factor 0,662. La medición del área foliar se realizó con una cinta graduada en centímetros midiendo el largo y ancho de la lámina foliar.

Peso del racimo (kg): Esta variable se registró en la cosecha, tomando el peso neto de racimo. Se consideró únicamente los frutos que cumplían con las normas para la exportación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza demostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para la variable índice de infección de sigatoka negra durante la época lluviosa, mientras que en la época seca no se encontró diferencias.

En la figura 1, se puede observar que el testigo químico (8,39) sobresalió en comparación a los demás tratamientos. A. salicílico y A. jasmónico se comportaron de manera similar con índices de infección de 11,38 y 11,60 respectivamente, diferenciándose de E. de carophilaceas (13,75). Es conocido que A. salicílico y A. jasmónico, poseen un efecto directo sobre *Mycosphaerella fijiensis*, tal como lo demuestra Mogollón y Castaño (2011), quienes realizaron evaluaciones a nivel de plántulas de musáceas, encontrando un efecto sobre el hongo, en valores de incidencia y severidad. Por otro lado, Sánchez *et al.*, (2013) manifestaron también que el ácido salicílico tiene un claro efecto sobre los mecanismos de resistencia en plantas. De igual manera Navarro (2019) observó una reducción de la incidencia de patógenos fungosos, por la activación del ácido jasmónico en condiciones de campo, en cultivos de ciclo corto. Finalmente, todos los inductores de resistencia presentaron un menor valor respecto al alcanzado por el testigo absoluto, que fue de 15,62.

Es importante mencionar, que el T. químico, superó a los demás tratamientos, justificando esto, del por qué, actualmente, es el modo de control convencional de la enfermedad en el cultivo de banano Sepúlveda (2016).

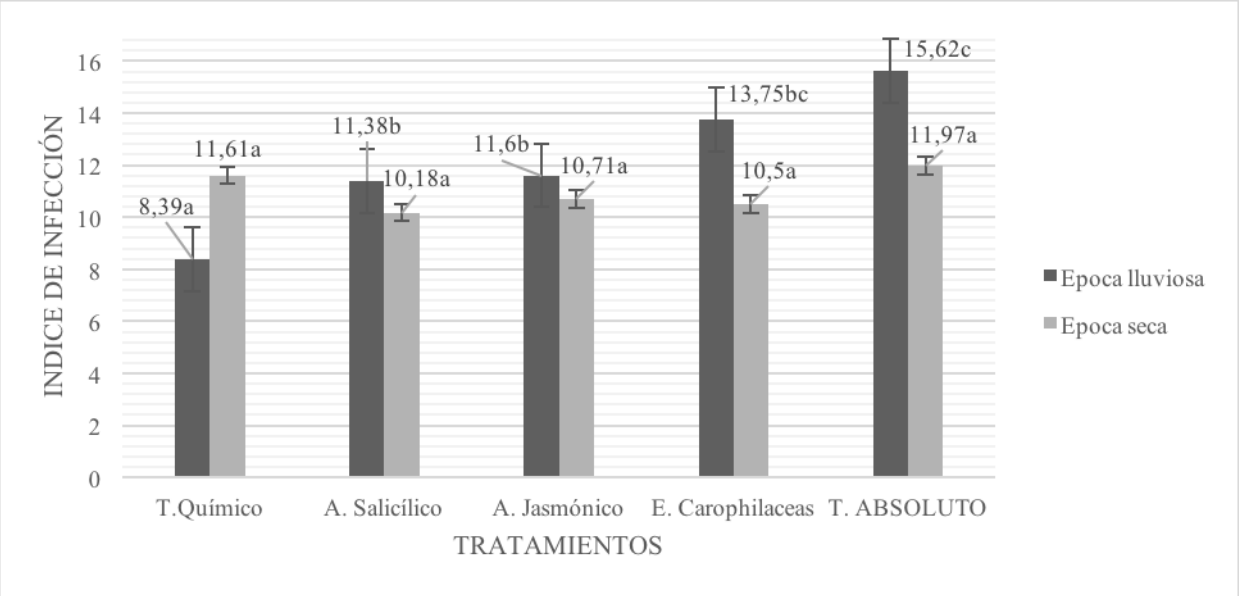

Figura 1. Índice de infección de sigatoka negra, a la floración.

En la figura 2, se puede observar que, de acuerdo al análisis de varianza realizado a la variable índice de infección en plantas de banano en la etapa de cosecha, en las dos épocas (lluviosa y seca), los tratamientos se diferenciaron estadísticamente entre sí.

El testigo químico, presentó los menores índices de infección. En época lluviosa su media fue de 26,48 y finalmente en época seca fue de 21,05.

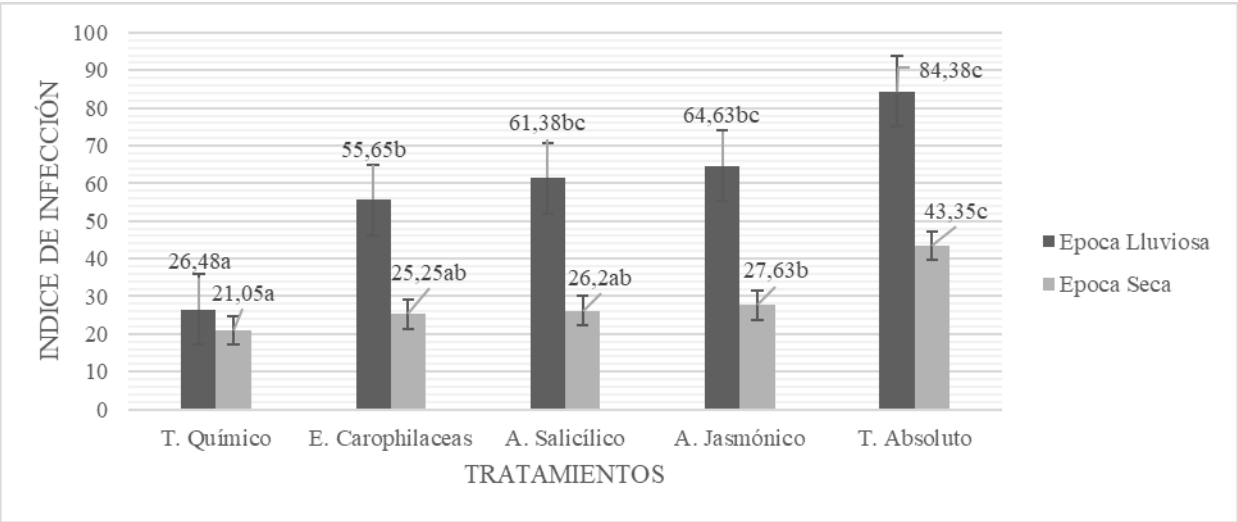

Figura 2. Índice de infección de la sigatoka negra, a la cosecha.

Entre los tratamientos inductores de resistencia, A. salicílico presentó un menor índice de infección, en el primer ciclo de evaluación (época lluviosa), diferenciándose de los demás. Es importante mencionar que al ser un período de lluvias, la presión de inóculo de *M. fijiensis*, aumenta significativamente (Fullerton y Casonato, 2019; Sepúlveda, 2016). Además, la media registrada por A. salicílico, es relativamente cercano al obtenido por el T. químico, asemejándose a los reportados por Patiño *et al.* (2010), quien usó comparaciones de inductores de resistencia frente a sustancias de síntesis química en el cultivo de banano. Ya en la época seca, E. de carophiláceas y A. salicílico

presentaron menores índices frente al tratamiento testigo absoluto y A. jasmónico.

En la figura 3, se puede observar el comportamiento de cada uno de los tratamientos estudiados. El análisis de varianza no reflejó diferencia estadística y no hubo ningún efecto de los tratamientos sobre la variable hojas funcionales. Sin embargo, el E. de carophiláceas presentó, junto con el testigo químico, las mejores medias en la época lluviosa, siendo esto un factor indispensable en el cultivo, es decir, alcanzar un oportuno número de hojas en este momento del ciclo de la planta (Dos Santos *et al.*, 2019). En la época seca, los inductores de resistencia fueron superiores numéricamente, respecto a los testigo absoluto y químico.

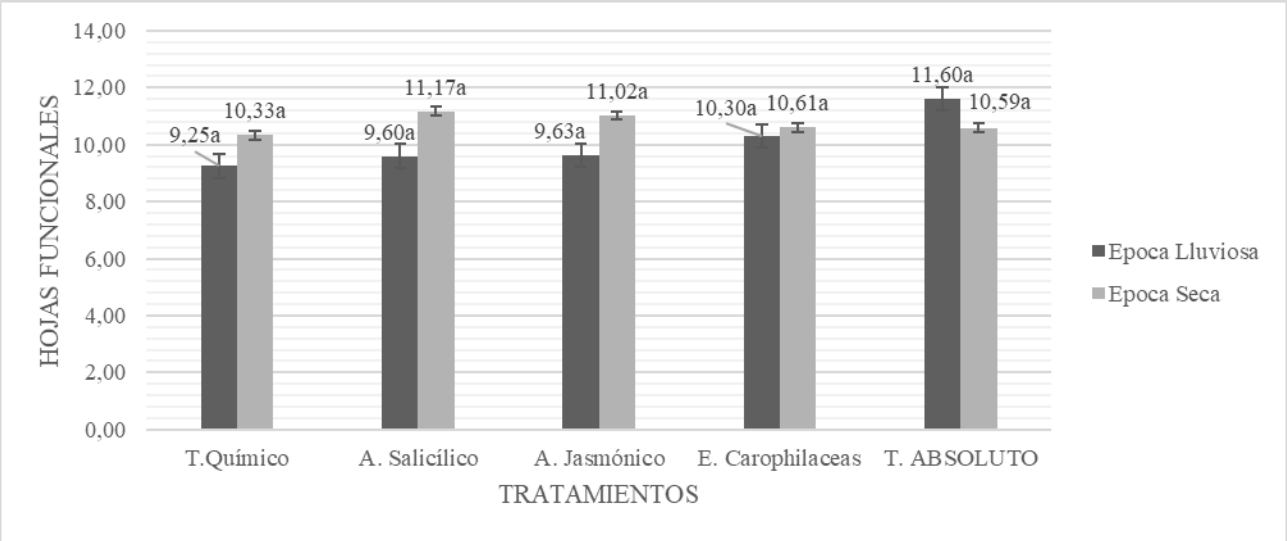

Figura 3. Hojas funcionales en la floración de plantas de banano.

En la figura 4, se puede observar que, de acuerdo al análisis de varianza realizado, existió diferencia estadística, en la época seca y lluviosa. El testigo químico fue el mejor tratamiento, con mayor número de hojas funcionales a la cosecha, en cada época. En lo que corresponde a los inductores de resistencia, el E. de carophiláceas (1,13) presentó un promedio sobresaliente respecto a los demás inductores, incluyendo el testigo absoluto (0,25) durante la época lluviosa.

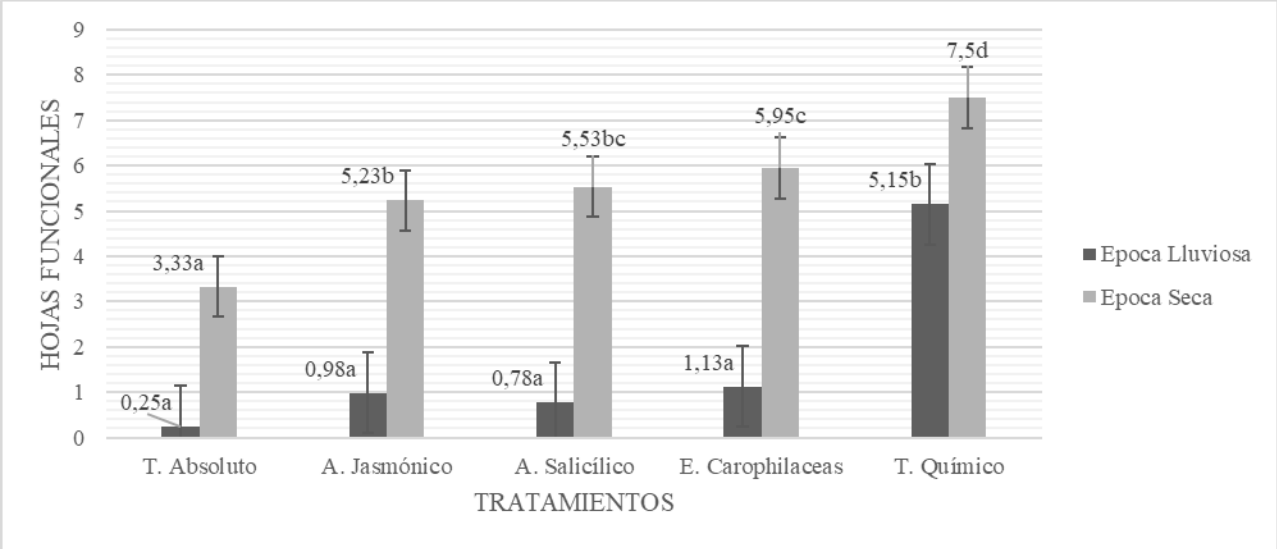

Figura 4. Hojas funcionales en la etapa de cosecha

Cabe recalcar que durante la época seca existió diferencia estadística, resaltando entre los inductores de resistencia nuevamente el E. de carophiláceas (5,95) como el mejor, seguido por el A. salicílico (5,53). Todos los inductores fueron superiores al testigo absoluto, que únicamente alcanzó un promedio de 3,33 hojas funcionales, estos datos fueron similares a los obtenidos por Sánchez y Stalin (2017) donde al evaluar sustancias bioestimulantes, a base de algas, reportaron efectos sobre la sigatoka negra en banano.

En la figura 5, se puede observar que los tratamientos no fueron diferentes en la variable área foliar. Comportándose en el primero como en el segundo ciclo de forma similar.

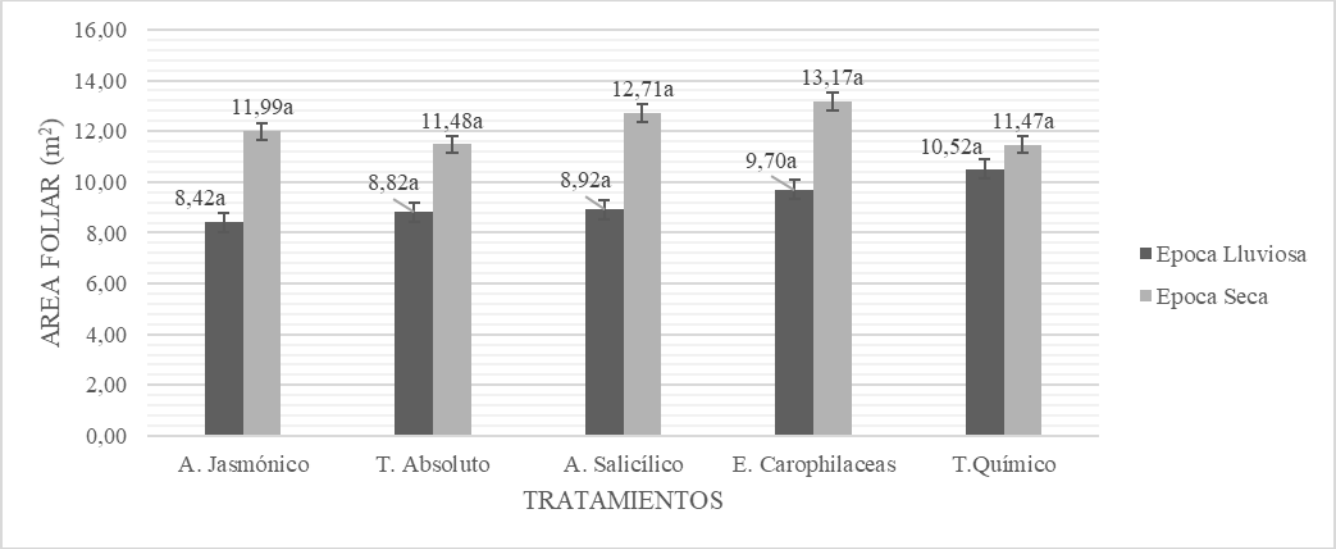

Figura 5. Área foliar evaluada durante la etapa a la floración

En la figura 6, se observa diferencia estadística entre los tratamientos en estudio. En el primer ciclo (época lluviosa), el testigo químico, fue superior a los demás, con un promedio de 4,7. Los inductores de resistencia fueron iguales estadísticamente, siendo únicamente el E. de carophiláceas (1,1) el que se acercó al valor obtenido por el testigo químico.

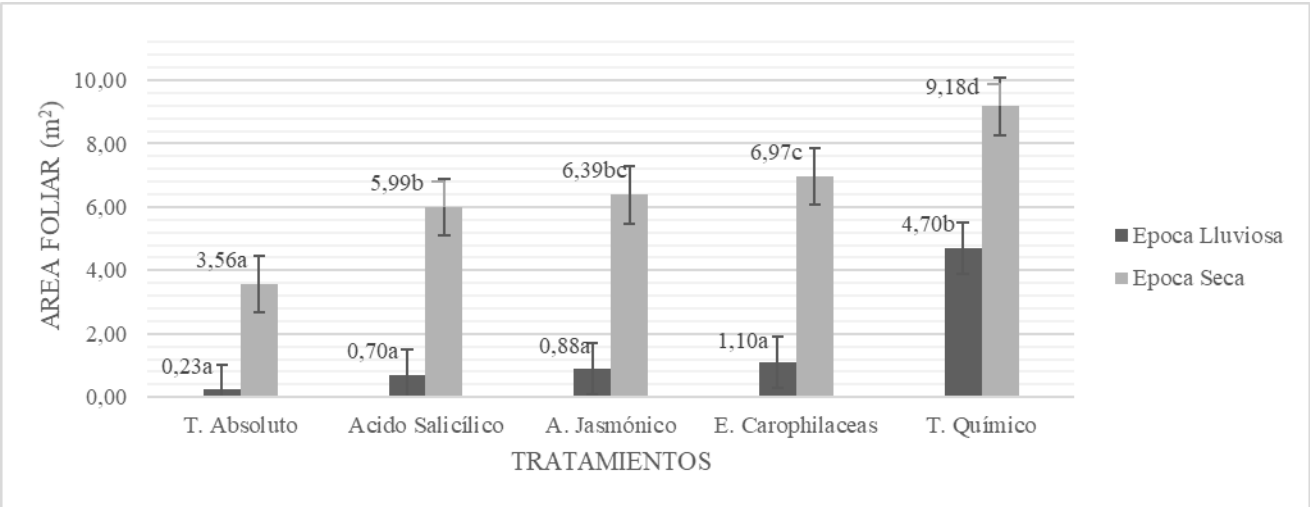

Figura 6. Área foliar evaluada durante la cosecha

En el segundo ciclo (época seca), se observa diferencia estadística en todos los tratamientos estudiados. El testigo químico, resultó ser el mejor, con un promedio de 9,18. En cuanto a los inductores de resistencia todos fueron superiores al testigo absoluto (3,56). El E. de carophiláceas fue el mejor de los inductores evaluados. Fullerton y Casonato (2019) mencionan que al hacer evaluaciones similares con el estado asexual del agente causal de la sigatoka negra, demostraron un efecto directo sobre el hongo, así también Sepúlveda (2016) reportó una sensibilidad del hongo a sustancias provenientes de algas.

Respecto a la variable peso neto del racimo, en el primer ciclo (época lluviosa) no se observó diferencia estadística en ninguno de los tratamientos evaluados (Figura 7). En el segundo ciclo, A. salicílico fue diferente a todos los inductores con un promedio de 31,93 y a los testigos químico y absoluto. Se conoce que este ácido, influye sobre las plantas en sus mecanismos de defensa (Patiño *et al.,* 2010: Sánchez *et al.,* 2013). Además, dentro de estos, se ha comprobado que al indicador reacciones de defensa en la planta, influye también en comportamiento agronómico de los vegetales a nivel de producción (Hernández *et al.,* 2019).

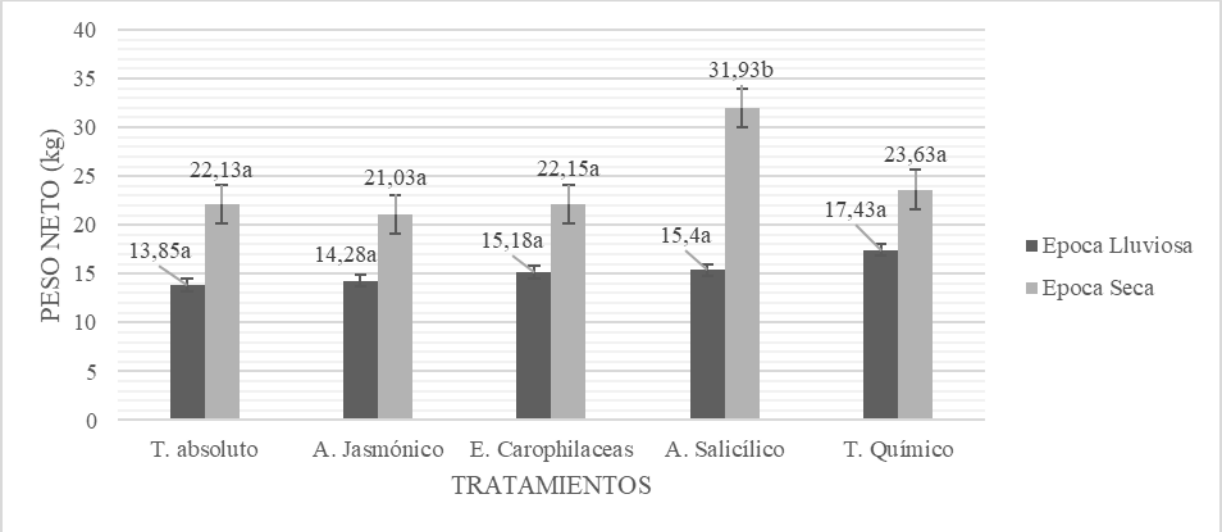

Figura 7. Peso neto del racimo registrado en época lluviosa y seca

CONCLUSIONES

Los inductores de resistencia mostraron un efecto sobre la sigatoka negra en comparación con el testigo absoluto, comportándose mejor los tratamientos ácido salicílico y extracto de carophiláceas.

Acido salicílico en epoca seca, presentó mejor promedio en cuanto a peso neto, valores superiores a los otros tratamientos.

LITERATURA CITADA

Briones, J., Novillo, Lenin A., y Hans, E. 2019. Apreciación del dólar en las exportaciones de banano ecuatoriano, hacia el mercado Ruso. Revista Científica Ciencia y tecnología 19(22).

Cedeño, G., Suarez, D., Vera, C., Devra, J., y Santis. P. 2017. Detección temprana de resistencia a *Mycosphaerella fijiensis* en genotipos locales de Musáceas en Ecuador». Scientia Agropecuaria 8(1):29-42.

Dos Santos Felix, Evaldo, Daniel Duarte Pereira, George Vieira do Nascimento, Elder Cunha de Lira, Tarcisio José de Oliveira Filho, Jaqueline de Araújo Oliveira Machado, y Cleomara Gomes de Sousa. 2019. «Diagnóstico do cultivo da banana em uma região do Brejo Paraibano/Diagnosis of banana production in a region of Brejo Paraibano». Brazilian Journal of Development 5(12):29616-32.

Fullerton, R. A. y S. G. Casonato. 2019. The infection of the fruit of 'Cavendish' banana by *Pseudocercospora fijiensis,* cause of black leaf streak (black Sigatoka)». European Journal of Plant Pathology 155(3):779-87.

Gauhl, F. 1989. Epidemiology and ecology of Black Sigatoka on plantain and banana (Musa spp.) in

Costa Rica, Centroamérica».

Harari, Raúl. 2004. Efectos sociales de la globalización: petróleo, banano y flores en Ecuador. Editorial Abya Yala.

Hernandez, D., Ayala, D., Ruiz Sáenz, E., Cruz Gutiérrez, y López., H. 2019. Ácido salicílico induce tolerancia al estrés por criogenia en *Solanum tuberosum*». Revista mexicana de ciencias agrícolas 10(7):1505-15.

Kumar, N., V. Krishnamoorthy, L. Nalina, y K. Soorianathasundharam. 2002. «A new factor for estimating total leaf area in banana».

Laredo Alcalá, E., Iñaky, José L. Martínez, A, Guillen., L, y Hernández, F. 2017. «Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistencia vegetal frente a patógenos». Revista mexicana de ciencias agrícolas 8(3):673-83.

Mogollón Ortiz, Ángela y Jairo Castaño Zapata. 2011. Efecto de inductores de resistencia en plántulas de plátano dominico-hartón (musa balbisiana aab) contra *Mycosphaerella* spp.. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 35(137):463-71.

Mulder, J. L. y R. H. Stover. 1976. «*Mycosphaerella* species causing banana leaf spot.» Transactions of the British Mycological Society 67(1):77-82.

Munir, Misbakhul, Hehe Wang, Paula Agudelo, y Daniel J. Anco. 2020. «Rapid Detection of Fungicide Resistance Phenotypes Among Populations of *Nothopassalora personata* in South Carolina Peanut Fields». Plant Health Progress 21(2):123-32.

Navarro, L. T. 2019. «Control biológico de *botrytis* por la cepa *Bacillus* sp. e implicaciones en la producción de plantas de interés agrícola».

Patiño H., Vasquez D. LE, Aristizabal G. MI, Castañeda S. DA, y Mira C. JJ. 2010. «Acido salicilico y acibenzolar-s metil como inductores de resistencia en el control de sigatoka negra». ACORBAT, 19, 2010, Medellin.

Pérez Vicente, Luis, Alicia Batlle Viera, Julio Chacón Benazet, y Virgen Montenegro Moracén. 2009. «Eficacia de *Trichoderma harzianum* a34 en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. Sp. cubense, agente causal de la marchitez por fusarium o mal de Panamá de los bananos en Cuba». Fitosanidad 13(4):259-64.

Regalado, J. G., Augusto, P., y Palacios, C. 2019. «Amenazas de las manchas foliares de Sigatoka, *Mycosphaerella* spp., en la producción sostenible de banano en el Ecuador». Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável 14(5):591-96.

Saltos, Amparito Cecilia León, Juan Gabriel Saltos Cruz, y Estefanía de los Ángeles Villagrán Guerrero. 2020. «Estado actual de los procesos de comercialización del sector bananero en la provincia de los Ríos, Ecuador». Universidad Ciencia y Tecnología 24(99):11-16.

Sánchez, Cedeño y Eddy Stalin. 2017. «Efectos de estimulantes orgánicos y fertilización potásica sobre la resistencia a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) y producción en el cultivo de banano (Musa paradisiaca) en el cantón Buena Fe».

Sánchez, Gerardo Rangel, Elda Castro Mercado, Elda Beltran Peña, Homero Reyes de la Cruz, y Ernesto García Pineda. 2013. «El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas». Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo 12:90-95.

Santosh, D. T. y K. N. Tiwari. 2019. «Estimation of water requirement of Banana crop under drip irrigation with and without plastic mulch using dual crop coefficient approach». P. 12024 en IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Vol. 344. IOP Publishing.

Sepúlveda, Leonardo. 2016. «Caracterización fenotípica de *Mycosphaerella fijiensis* y su relación con la sensibilidad a fungicidas en Colombia». Revista mexicana de fitopatología 34(1):1-21.

Trinidad-Cruz, J., Rincón-Enríquez., G., Quiñones-Aguilar., E., Arce-Leal., A. Leyva-López., N. 2019. «Inductors of plant resistance in the control of *Candidatus Liberibacter* asiaticus in Mexican lemon (Citrus aurantifolia) trees.» Revista Mexicana de Fitopatología 37(2).

Vite Cevallos, Harry, Héctor Carvajal Romero, y Salomón Barrezueta Unda. 2020. «Aplicación de algoritmos de aprendizaje automático para clasificar la fertilidad de un suelo bananero». Conrado 16(72):15-19.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

RESPUESTA DEL CULTIVO DE *Capsicum annuum* L. AL RIEGO DEFICITARIO ETAPA INICIAL Y DE DESARROLLO

RESPONSE OF *Capsicum annuum* L. CROPS TO DEFICIT IRRIGATION DURING INITIAL AND DEVELOPMENT STAGES

Rubén Darío Rivera Fernández, Juan Ramón Moreira Saltos, Carlos Geovanny Moreira Muñoz, Jefferson Rafael Cevallos Rivera

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí Extensión Chone, Avenida Eloy Alfaro y Malecón

Correo: ruben.rivera@uleam.edu.ec

Información del artículo

Tipo de artículo:
Artículo original

Recibido:
05/08/2020

Aceptado:
15/12/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA
11(2):88-94

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.210

Resumen

El objetivo fue determinar el efecto del riego deficitario aplicado en la etapa inicial y de desarrollo del cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L), sin que afecte el rendimiento. Los tratamientos fueron 70, 80, 90 y 100% (Control) de la evapotranspiración del cultivo (Etc). El material experimental fue el hibrido Quetzal, sembrado a un distanciamiento de 1,0 m x 0,5 m. El riego se realizó por goteo con una frecuencia de dos días y los cálculos de la Eto se estimó mediante el tanque tipo A. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño DBCA con cuatro réplicas. Se midieron: el uso eficiente del agua (kg/m^3), altura de planta (cm), peso del fruto (g), número de frutos por planta y rendimiento (t/ha). Con la aplicación del 80% de la sEtc se obtuvo un mayor uso eficiente del agua con 12,5 y 12,6 kg/m^3. La altura de planta presentó diferencia significativa ($p<0,05$) a los 27 y 37 ddt, donde la reducción del 20% obtuvo mayor promedio. El número de frutos por planta y el rendimiento (t/ha) mostraron diferencias estadísticas ($p <0,05$), el 80% de la Etc presentó los mayores promedios con 8,8 frutos/planta y 20,1 t/ha. El peso (g) del fruto fue similar en todos los tratamientos, entre 112,2 y 114,1 g/fruto. Se concluye que el cultivo del hibrido Quetzal tolera una reducción del 20% de la lámina de riego sin que afecte la producción, lo que se traduce en una mayor eficiencia del uso de agua.

Palabras clave: Estrés hídrico, uso eficiente del agua, lámina de riego.

Abstract

The objective was to determine the effect of deficit irrigation during the initial and development stages of a bell pepper (*Capsicum annuum* L) crop, without affecting the yield. The treatments were 70, 80, 90 and 100% (control) of the crop evapotranspiration (ETo). The experimental material was the hybrid Quetzal, planted at a distance of 1.0 m x 0.5 m. Dripping irrigation was used with a frequency of two days and the calculations of the ETo were estimated by means of the type A tank. The treatments were distributed in a DBCA design with four replicates. The following parameters were measured: efficient water use (kg/m^3), plant height (cm), fruit weight (g), number of fruits per plant and yield (t/ha). With the application of 80% of the Eto, a greater efficient use of water was obtained with 12.5 and 12.6 kg/m^3. The plant height presented significant difference ($p<0.05$) at 27 and 37 ddt, contributing to the reduction of 20% of the highest average. The number of fruits per plant and the yield (t/ha) showed statistical differences ($p <0.05$), being 80% of the Etc who presented the highest averages with 8.8 fruits/plant and 20.1 t/ha. The weight (g) of the fruit was similar in all treatments, between 112.2 and 114.1 g/fruit. It is concluded that hybrid Quetzal crops tolerate a reduction of 20% of the irrigation sheet without affecting production, which translates into greater efficiency of water use.

Keywords: Water stress, water use efficiency, irrigation sheet.

INTRODUCCIÓN

La agricultura bajo riego es el sector que más consume agua dulce en el mundo con aproximadamente el 70% del total de la extracción de agua dulce para producir el 40% de los alimentos (Ayars *et al*., 2006). Esto demuestra lo determinante que es el agua en la producción agrícola. Patane *et al*. (2011) señalan que entre las principales limitantes de la actividad agrícola está el déficit hídrico, sobre todo en zonas semiáridas, donde el requerimiento de producir más con menos agua es una prioridad (Khouri *et al*., 2011; Wright y Cadiero, 2011), sin dejar de lado que el suministro de agua insuficiente y poco confiable en los países menos desarrollados es a menudo la causa principal de la pobreza y el hambre (Ringler y Zhu, 2015).

Debido a esta problemática se deben implementar técnicas que permitan el uso eficiente del agua sin que afecte la producción. En este sentido, Costa *et al*. (2007) y Favati *et al*. (2009), indican que la mejor herramienta en situaciones donde el agua es escasa es el riego deficitario, que tiene la finalidad de ahorrar agua sin afectar la producción y calidad de los frutos (Serna-Pérez *et al*., 2008; Serna-Pérez *et al*., 2011). Zegbe-Domínguez *et al*. (2003), indican que el riego deficitario implica o trata de aplicar una cantidad menor de agua de la requerida por la planta en una etapa fenológica del cultivo. Aunque se debe considerar que al disminuir el régimen de riego se puede alterar negativamente el desarrollo vegetativo y productivo, ya que afecta directamente la capacidad de la planta para capturar los recursos necesarios para la fotosíntesis y la eficiencia con la que convierten los recursos físicos en material biológico (Yi *et al*., 2010; Bozkurt *et al.*, 2015).

Molina *et al*. (2015), aplicaron el riego deficitario en el cultivo de *Pyrus communis* L. (Rosaceae), obteniendo resultados positivos en la tasa de crecimiento del fruto y un ahorro del 33 y 45% de agua aplicadas en el riego. Fuat (2016), menciona que el trigo puede ahorrar gran cantidad de agua con una mínima reducción del rendimiento aplicando estrategias adecuadas de déficit de agua, considerando la etapa de crecimiento del trigo. Tapia *et al*. (2010), mencionan que la reducción del 54% del régimen de riego incrementó el rendimiento y la calidad comercial del durazno. Serna-Pérez y Zegbe (2012), encontraron que el 40% de riego deficitario produjo chiles de mejor calidad comercial y con rendimiento similar al aplicar el 100% de la lámina de riego, lo cual permitió un ahorro de agua de 1520 m^3/ha.

Nangare *et al*. (2016), mencionan que en *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae), la aplicación del riego deficitario está determinado por la etapa fenológica, el mismo que podría estar entre 20 y 40% de reducción de la evapotranspiración del cultivo manteniendo el rendimiento y calidad del fruto. Según Kumar *et al*. (2015), la calidad y rendimiento es mejor cuando se aplica el riego deficitario en la etapa de floración que en la etapa vegetativa del tomate. Mustafa *et al*. (2017), encontraron que la aplicación del riego deficitario en el inicio de floración puede aumentar el rendimiento en el cultivo de trigo dependiendo del tipo de suelo y su fertilidad. Hergert *et al*. (2016), indican que en *Camelina sativa* (L.) Crantz (Brassicaceae) el riego deficitario es oportuno realizarlo durante la floración y llenado del grano, donde se produjo mayor rendimiento. Entre otros aspectos a considerar el riego deficitario también evita las pérdidas de agua por percolación que ocurren durante el riego (Greaves y Wang, 2017). También se tiene variaciones en el riego deficitario, como el sostenido, moderado y el severo (López *et al*., 2018) o combinado con cobertura vegetal (Forey *et al.,* 2016).

Por otro lado, la determinación de la Evapotranspiración de referencia (Eto) es determinante en la aplicación del riego deficitario. Para la cual suelen usar ecuaciones empíricas para su estimación (Allen *et al*., 1998). Andreu *et al*. (1997), mencionan que la aplicación del riego deficitario modifica la humedad del suelo tanto en la superficie como en el perfil del suelo. Estos criterios son necesario tener claro puesto que en esta investigación se trabajó con mediciones diaria de la evaporación del tanque evaporimetro tipo A (Allen *et al*., 2006) para obtener la Eto. La información descrita evidencia la amplia aplicación del riego deficitario, pero al mismo tiempo la necesidad de evaluar la etapa fenológica del cultivo en donde no se tiene disminución del rendimiento, por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia del riego deficitario en la etapa inicial y desarrollo del cultivo *Capsicum annuum* híbrido Quetzal sin que se afecte los rendimientos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

La investigación se llevó a cabo en la parroquia San Antonio de cantón Chone-Manabí-Ecuador. La localidad presenta un clima tropical subhúmedo, con precipitacion promedio anual de 1228,6 mm concentrado en los meses de enero-abril. Una temperatura media de 25,9°C y una altitud de 15 msnm.

En el sitio del ensayo se analizó el perfil del suelo hasta los 70 cm de profundidad (área explorada por las raíces de *C. annuum*) donde se encontró dos horizontes bien definidos, de 0-30 cm y de 30 a 70 cm, a los cuales se realizó el análisis de textura por el método de la Pipeta obteniendo en el primer horizonte: arcilla 15,2%; limo 44,8%; arena 40,0% (clase textural franca) y en el segundo horizonte: arcilla 2,4%; limo 20,8%; arena 76,8% (clase textural arena franca). La capacidad de campo fue de 24,5% el punto de marchitez de 12,4% la densidad aparente 1,35 g/cm^3 y la infiltración básica de 13 mm/h.

Material experimental

Se utilizó como material experimental plantas de *C. annuum* L. (Solanaceae), híbrido Quetzal, sembrado a un distanciamiento de 1 m entre hilera y 0,5 m entre planta.

Diseño experimental

Se estudiaron cuatro láminas de riego las mismas que fueron establecidas con la reducción de la evapotranspiración del cultivo (Etc) aplicado en la etapa inicial y desarrollo del cultivo *C. annuum*, teniendo en cada etapa diferentes láminas de riego en función del Kc del cultivo. Los tratamientos fueron: 70, 80, 90 y 100% (control) de la Etc. Los tratamientos fueron distribuidos en un diseño de bloques completos al azar con cuatro réplicas. La unidad experimental estuvo conformada por 100 plantas divididas en cuatro hileras.

Riego. La aplicación del riego se lo realizó mediante un sistema riego por goteo, con un gotero autocompensado de un caudal de 3,8 L/h (dato del catálogo) ubicado en una manguera de 16 mm de diámetro nominal, a una distancia de 0,5 m entre gotero. La frecuencia de riego fue establecida en dos días para evitar enfermedades fungosas. Para del control de riego en cada línea de goteo en las unidades experimentales se colocó una válvula de control.

El cálculo de la Eto se realizó mediante la metodología del Tanque evaporímetro Tipo A, donde:

$$\mathrm{Eto} = \mathrm{Ev} * \mathrm{Kp} \quad (1)$$

Eto= evapotranspiración de referencia (tomada del Tanque tipo A) (mm/día)
Ev= Lectura diaria tomada del Tanque Tipo A (mm/día)
Kp= coeficiente de corrección del tanque (en este caso se consideró un valor de 0,7 de acuerdo con el manual de la FAO).

El cálculo de los parámetros de riego se realizó mediante las siguientes ecuaciones:

El volumen total de riego:

$$\mathrm{Vt} = \frac{\mathrm{Va}}{\mathrm{Ef}} \quad (2)$$

Donde,

Vt= volumen total de riego (litros día planta)
Va= volumen de aplicación (litros día planta)
Ef= eficiencia de riego (en este caso se consideró 90%)

El volumen de aplicación (Va)

$$Va = Etc * Eh * Ep \quad (3)$$

Etc=Evapotranspiración del cultivo
Eh= Espaciamiento entre hilera (1,0 metro)
Ep=Espaciamiento entre planta (0,5 metros)
Evapotranspiración del cultivo

$$Etc = Eto * Kc * FC \quad (4)$$

Donde:

Eto= evapotranspiración de referencia tomada del Tanque Tipo A (mm/día)
Kc= coeficiente del cultivo (Cuadro 1)
FC= factor de cobertura (en este caso de consideró 0,75 recomendado para hortalizas)

El tiempo de riego fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$Tr = \frac{Vt*Fr}{q*ng} \quad (5)$$

Vt= volumen total (litros por planta diario)
Fr=frecuencia de riego (días)
q= caudal del gotero (L/h)
ng= número de goteros por planta (en este caso fue de un gotero por planta)

Cuadro 1. Valores del Kc y los días de las etapas del cultivo

Kc			Días de las etapas del cultivo		
Inicial	Medio	Final	Inicial	Desarrollo	Medio
0,6	1,05	0,9	25	35	40

Manejo del cultivo

El semillero se realizó en bandejas germinadoras, empleando como sustrato turba. El trasplante se realizó a los 28 días. Al momento que las plantas alcanzaron 30 cm, se procedió a realizar el tutorado. El control de plagas se lo realizó con insecticidas sistémico a base de Imidacloprid en dosis de 1 mL/L. El control de enfermedades del suelo mediante Previcur Energy en dosis de 2 L/ha. Se utilizó una fertilización base de 100 kg/ha (N), 50 kg/ha (P_2O_5) y 150 kg/ha (K_2O).

Variables analizadas

Riego. Se midió el consumo de agua en mm la misma que fue la suma de todas las aplicaciones de agua realizadas en el cultivo. Además, se evaluó el uso eficiente del agua representada como kg de *C. annuum* por metro cubico de agua aplicada (kg/m^3).

Vegetativa. En esta variable se tuvo a la altura de la planta (cm), evaluada a los 27, 37 y 47 días después del trasplante (ddt), tomando 20 plantas al azar de cada unidad experimental.

Producción. Se consideró en la producción a las siguientes variables: número de frutos por planta, peso de los frutos (g), longitud de fruto (cm), y el rendimiento en t/ha tomado como la suma de las cosechas realizadas durante cinco semanas.

Análisis estadístico

A las variables vegetativas y productivas se realizaron análisis de varianza y la separación de medias por Tukey al 0,05. Además, se realizó el ajuste de tendencia por regresión en las variables consumo de agua y uso eficiente del agua; el porcentaje de la Etc y el rendimiento. Para el procesamiento de los datos se utilizó el software InfoStat (Di Rienso *et al.*, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Consumo y uso eficiente del agua

El consumo de agua disminuyó con la aplicación del riego deficitario, con un consumo máximo de 202,4 mm durante los 90 ddp. El uso eficiente del agua aumenta con la disminución de la lámina de riego obteniendo 13,0 y 12,4 kg/m^3 con la reducción del 30 y 20% de la lámina (Cuadro 2), lo que coindice con Serna y Zegbe (2012), al reducir la lámina en un 40% en el cultivo de *C. annuum*. Esta variable integra la producción y el consumo de agua, el hecho que sea mayor la eficiencia del uso del agua no significa que se haya alcanzado una producción adecuada, simplemente que el consumo de agua fue menor. Por tanto, se debe tener la precaución de evaluar ambas variables. Rodríguez *et al.* (2014), al evaluar la disminución de la lámina de riego en 20% y 40% obtuvieron entre 12,93 y 14,67 kg/m^3 con una frecuencia de riego de dos días; sin embargo, la reducción de la producción fue 12,61% cuando se redujo 40% la lámina. Rivera *et al.* (2018), presentan una eficiencia del uso del agua alrededor de 5 kg/m^3 cuando la lámina aplicada fue superior a los 300 mm y 10 kg/m^3 cuando la lámina fue de 197 mm.

Cuadro 2. Valores de consumo y uso eficiente del agua

Tratamientos	Consumo de agua (mm)	Eficiencia del uso de agua (kg/m^3)
100%	202,4	7,2
90%	182,16	9,0
80%	161,92	12,4
70%	141,68	13,0

Los valores de consumo de agua y el uso eficiente del agua, tienen un comportamiento cuadrático (R^2=0,956) (Figura 1), y demuestra que, a medida que aumenta el consumo, disminuye su uso eficiente esto indica que el exceso de agua limita la producción cultivo de *C. annuum.*

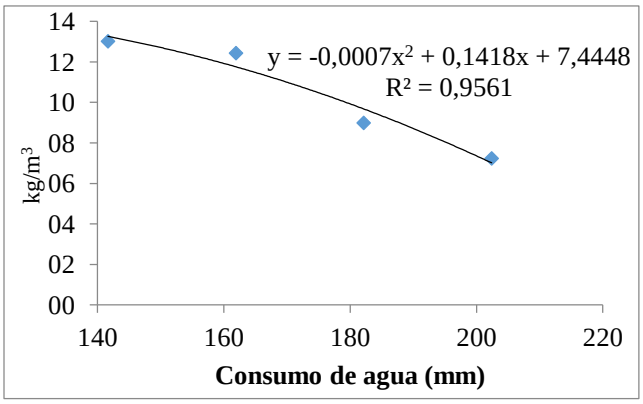

Gráfico 1. Relación del consumo y el uso eficiente del agua.

Altura de planta

En el cuadro 3, se observan los valores promedios de la altura de planta, en los diferentes días de evaluación. La lámina de riego tuvo influencia en las dos primeras evaluaciones donde la reducción del 20% que presenta los mayores promedios, lo cual no es consistente a los 47 ddt ya que no se encontraron diferencias estadísticas (p=0,11). Rodríguez *et al*. (2015), indicaron que el déficit hídrico tiene efecto en el crecimiento del cultivo de *C. annuum* por lo cual solo se debe considerar una reducción de la lámina de 20%. Si consideramos que las dos primeras evaluaciones están dentro de la etapa inicial y los primeros días de crecimiento y 47 ddt estaría en la parte final de la etapa de crecimiento donde el cultivo establece el crecimiento, por lo cual sería posible relacionar la etapa fisiológica de la planta como lo mencionan Fuat (2016); Zhang *et al* (2012), con el riego deficitario un factor a considerar es la etapa en la que se realiza el déficit hídrico ya que en ciertos casos es determinante.

Cuadro 3. Valores promedios de la altura de planta (cm) durante la etapa de desarrollo del cultivo de *Capsicum annuum*

Tratamiento	Días después del trasplante		
	27	37	47
100%	18,4 c	29,5 c	55,6
90%	20,6 b	35,6 ab	63,0
80%	22,8 a	37,8 a	60,2
70%	17,2 c	33,1 b	56,8
Probabilidad	< 0,01	< 0,001	0,11
Error estándar	0,4	0,6	1,9

a, b, c, letras distintas en una misma columna indican diferencia significativa según Tukey para p< 0,05.

Producción

En el cuadro 4, se presentan los valores correspondientes a la producción del *C. annuum*. Con respecto al peso del fruto, el mismo no presentó variación por efecto de la reducción de la lámina de riego. Sin embargo, en la variable número de frutos por planta y rendimiento se tiene diferencias significativas ($p<0,01$), la lámina de 80% de la Etc presenta los mayores promedios con 8,8 frutos/planta y 20,1 t/ha. Fernández *et al*. (2005), al aplicar un régimen de déficit de entre 20 y 50% de la Etc encontraron influencia en el número total de frutos y además de su calidad. Se debe considerar que a menudo el intervalo de riego mayor a tres días provoca un déficit hídrico que afecta el rendimiento (Adeoye *et al*., 2014), en este sentido es posible decir que el déficit provocado causa menor estrés a la planta que aquel que se obtiene en intervalos amplios de riego. Si bien es cierto esta variable no se estudió se debe considerar en próximas investigaciones.

El número de fruto por planta es lo que determina un mayor rendimiento (Cuadro 4) dado que el peso del fruto fue similar en todos los tratamientos. La relación cuadrática (Figura 2) del rendimiento y la lámina de riego sugiere que ambos extremos afectan el rendimiento. Con la aplicación del 100% de la lámina se pudo observar aunque no fue evaluada cuantitativamente una propagación de hongos y bacterias por el exceso de humedad en el suelo, a diferencia de los demás tratamientos.

Cuadro 4. Variables relacionadas con la producción del cultivo de *C. annuum*

Porcentaje Etc	Peso fruto (g)	Nº de fruto/planta	Rendimiento t/ha
100%	113,4	6,5 b	14,7 c
90%	112,2	8,3 a	18,5 ab
80%	114,1	8,8 a	20,1 a
70%	113,8	7,3 ab	16,4 bc
Probabilidad	0,7	< 0,01	< 0,01
Error estándar	7,8	0,4	0,35

a, b, letras distintas en una misma columna indican diferencia significativa según Tukey al 0,05.

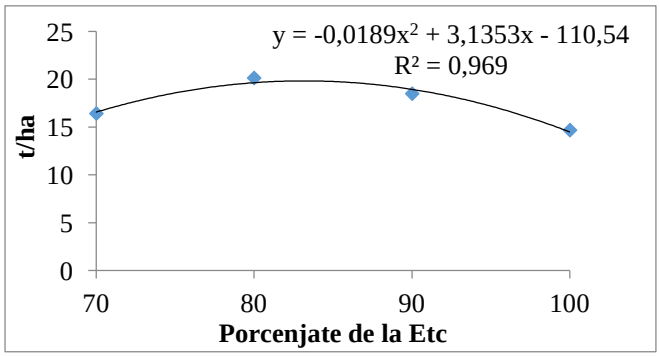

Figura 2. Regresión del rendimiento con respecto a la lámina de aplicación.

CONCLUSIONES

El riego deficitario es aplicable en el cultivo de *C. annuum* con la posibilidad de disminuir hasta 20% de la Etc en la etapa inicial y desarrollo del cultivo, lo que provoca un incremento en el crecimiento vegetativo y de producción, con un consumo menor de agua con respecto al testigo. Se debe considerar que la aplicación del riego deficitario tiene un comportamiento independiente en función del cultivo y condiciones de riego porque estos resultados son aplicables bajo las mismas condiciones de este experimento.

LITERATURA CITADA

Adeoye, P. A., Adesiji, R. A., Oloruntade, A. J., & Njemanze, C. F. 2014. Effect of irrigation intervals on growth and yield of bell pepper (*Capsicum annuum*) in a tropical semi-arid region. American Journal of Experimental Agriculture. 4(5):515-524.

Allen, R., Pereira, L., Raes, D., & Smith, M. 1998. Crop Evapotranspiration: FAO Irrigation and Drainage Paper 56. Rome, Italia: FAO.

Allen, R., Pereira, L., Raes, D., & Smith, M. 2006. Evapotranspiración del cultivo. Guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos. Estudios de riego y drenaje 56. Roma, Italia: FAO.

Andreu, L., Hopmans, J. W., & Schwankl, L. J. 1997. Spatial and temporal distribution of soil water balance for a drip-irrigated almond tree. Agricultural Water Management, 35:123-146.

Ayars, J. E., Christen, E. W., Soppe, R. W., & Mayers, W. S. 2006. The resource potential of in-situ shallow groundwater use in irrigated agriculture: a review. Irrigation Science. 24(3):147-160.

Bozkurt, Y., Yazarb, A., Çolakc, İ., Akçaa, H., & Duraktekina, G. 2015. Evaluation of crop water stress index (CWSI) for Eggplant under varying irrigation regimes using surface and subsurface drip systems. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 4:372-382.

Costa, J. M., Ortuño, M. F., & Chaves, M. M. 2007. Deficit irrigation as a strategy to save water: physiology and potential application to horticulture. Journal of Integrative Plant Biology. 49:1421–1434.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. 2008. InfoStat,

versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Favati, F., Lovelli, S., Galgano, F., Miccolis, V., Tommaso, T. D., & Candido, V. 2009. Processing tomato quality as affected by irrigation scheduling. Science Horticulturae, 122:562-571.

Fernández, M. D., Gallardo, M., Bonachela, S., Orgas, F., Thompson, R. B., & Fereres, E. 2005. Water use and production of a greenhouse pepper crop under optimum and limited water supply. Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 80:87-96. doi: https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511897.

Forey, O., Metay, A., & Wery, J. 2016. Differential effect of regulated deficit irrigation on growth and photosynthesis in young peach trees intercropped with grass. European Journal of Agronomy. 81:106-116.

Fuat, A. 2016. The effects of different deficit irrigation strategies on yield, quality, and water-use efficiencies of wheat under semi-arid conditions. Agricultural Water Management. 167:1-10.

Greaves, G., & Wang, Y. 2017. Effect of regulated deficit irrigation scheduling on water use of corn in southern Taiwan tropical environment. Agricultural Water Management. 188:115-125.

Hergert, J. F., Margheim, A. D., Pavlista, D. L., Martin, T. A., Isbell, R. J., & Supalla. 2016. Irrigation response and water productivity of deficit to fully irrigated spring camelina. Agricultural Water Management. 177:46-53.

Khouri, N., Shideed, K., & Kherallah, M. 2011. Food security: perspectives from the Arab World. Food Security. 3(S1):1-6.

Kumar, S., Singh, Y., Nangare, D., Bhagat, K., Kumar, M., Taware, P.B., Kumar, Anjali., & Minhas, P. 2015. Influence of growth stage specific water stress on the yield, physico-chemical quality and functional characteristics of tomato grown in shallow basaltic soils. Scientia Horticulturae. 197:261-271.

López, M., Espadafor. M., Testi, L., Lorite, I., Orgaza, F., & Fereres, E. 2018. Water use of irrigated almond trees when subjected to water deficits. Agricultural Water Management. 195:84-93.

Molina, M., Vélez, J., & Rodríguez, P. 2015. Efecto del riego deficitario controlado en las tasas de crecimiento del fruto de pera (*Pyrus communis* L.), var. Triunfo de Viena. Revista Colombia de Ciencias Hortícolas. 9(2):234-246.

Mustafa, S., Vanuytrechtb, E., & Huysmans, M. 2017. Combined deficit irrigation and soil fertility management on different soil textures to improve wheat yield in drought-prone Bangladesh. Agricultural Water Management. 191:124-137.

Nangare, D., Yogeshwar, S., Kumar, S., & Minhas, P. 2016. Growth, fruit yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affected by deficit irrigation regulated on phenological basis. Agricultural Water Management. 171:73-79.

Patane, C., Tringali, S., & Sortino, O. 2011. Effects of deficit irrigation on biomass, yield, water productivity and fruit quality of processing tomato under semi-arid Mediterranean climate conditions. Science Horticulturae. 129:590-596.

Ringler, C., & Zhu, T. J. 2015. Water resources and food security. Agronomy Journal. 107(4):1533-1538.

Rivera, R., Rodríguez, F., Mesías, F., & Mendoza, D. 2018. Hydrogel for improving water use efficiency of *Capsicum annuum* crops in Fluvisol soil**.** Revista de la Facultad de Ciencias Agrícola Uncuyo. 50(2):23-31.

Rodríguez, R., Rázuri, L., Rosales, R., & Ugarte, J. 2015. Desenvolvimento vegetativo de pimentão cultivado com lâminas e frequências de irrigação. Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária. 9(2):49-55.

Rodríguez, R., Rázuri, L., Swarowsky, A., & Rosales, J. 2014. Efecto de riego deficitario y diferentes frecuencias en la producción del cultivo de pimentón. Interciencia. 39(8): 591-596.

Serna-Pérez, A., & Zegbe, J. 2012. Rendimiento, calidad de fruto y eficiencia en el uso del agua del chile 'Mirasol' bajo riego deficitario. Revista Fitotecnia Mexicana Chapingo Serie Horticultura. 35(5):53-56.

Serna-Pérez, A., Zegbe, J., Mena-Covarrubias, S. 2011. Rendimiento y calidad de chile seco 'Mirasol' cultivado bajo riego parcial de la raíz. Revista Fitotecnia Mexicana Chapingo Serie Horticultura. 17(1):19-24.

Serna-Pérez, A., Zegbe, J., Mena-Covarrubias, S., & Rubio-Díaz. 2008. Sistemas de manejo para la producción sustentable de chile seco cv. 'Mirasol'.

Revista Fitotecnia Mexicana Chapingo Serie Horticultura. 31(3):1-44.

Tapia, M., Larios, A., Abrisqueta, I., Mounzer, O., Vera, J., Abrisqueta, J., & Ruiz, M. 2010. Riego deficitario en melocotonero. Análisis del rendimiento y de la eficiencia en el uso del agua. Revista Fitotecnia Mexicana Chapingo Serie Horticultura. 33(4):89-93.

Wright, B., & Cadiero, C. 2011. Grain reserves and food security in the Middle Eastand North Africa. Food Security. 3(S1):61-76.

Yi, L., Shenjiao, Y., Shiqing, L., Xinping, C., & Fang, C. 2010. Growth and development of maize (*Zea mays* L.) in response to different field water management practices: resource capture and use efficiency. Agricultural and Forest Meteorology. 150:606-613. http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2010.02.003.

Zegbe-Dominguez, J. A., Behboudian, M. H., Lang, A., & Clothier, B. E. 2003. Deficit irrigation and partial root zone drying maintain fruit dry mass and enhance fruit quality in 'Petopride' processing tomato. Science Horticulturae. 98:505-510.

Zhang, J., Cheng, Z., & Zhang, R. 2012. Regulated deficit drip irrigation influences on seed maize growth and yield under film. Procedia Engineering. 28: 464-468.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

EFECTIVIDAD DE BIOCHAR Y BIOFERTILIZANTES EN EL CRECIMIENTO Y CALIDAD DE PLÁNTULAS DE CACAO

EFFECTIVENESS OF BIOCHAR AND BIOFERTILIZERS IN THE GROWTH AND QUALITY OF COCOA SEEDLINGS

Jessica Elizabeth Cargua Chávez[1], Corayma Maribel Echeverria Arangundi[1], George Alexander Cedeño García[2]

[1]Carrera de Tecnología Superior en Producción Agrícola, Instituto Superior Tecnológico Calazacón, Av. Galo Luzuriaga y Calle B. Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador.
[2] Departamento de Agronomía, Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, km 13 ½ vía Portoviejo - Santa Ana, Santa Ana, Manabí, Ecuador.

Email: jessicacargua@tsachila.edu.ec

Información del articulo

Tipo de artículo:
Artículo original

Recibido:
01/09/2020

Aceptado:
15/12/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA
11(2):95-100

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.224

Resumen

El objetivo principal de la investigación fue evaluar la efectividad de biochar y biofertilizantes en el crecimiento y calidad de plántulas de cacao en vivero. El trabajo se desarrolló desde enero a abril del 2020, en casa de cultivos del Instituto Superior Tecnológico Calazacón en Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. Los tratamientos evaluados fueron T1: biochar, T2: biochar + biofertilizante, T3: biofertilizante, T4: fertilizante compuesto y T5: tratamiento control. El biochar fue aplicado en dosis de 20 g kg^{-1} de sustrato. El biofertilizante se conformó de un consorcio microbiano comercial compuesto por cepas de hongos, bacterias, micorrizas y levaduras. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro replicas. La unidad experimental se conformó de 20 plántulas de cacao CCN-51. Las principales variables registradas fueron masa seca de planta (g), área foliar (cm^2) e índice de calidad de Dickson. Los resultados mostraron diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos evaluados, destacándose el tratamiento de biochar + biofertilizante con la mayor tasa de crecimiento en masa seca, área foliar e índice calidad de Dickson con 8,23 g, 497,82 cm^2 y 5,45, respectivamente, en relación a los demás tratamientos evaluados. Se encontró una correlación significativa ($p < 0,05$) y positiva entre el índice de calidad de Dickson y las variables de crecimiento analizadas. La aplicación combinada de biochar y biofertilizantes en los sustratos puede potenciar el crecimiento y calidad de plántulas de cacao en vivero.

Palabras clave: Biocarbón, microorganismos eficientes, plantas de cacao, vivero.

Abstract

he main objective of this study was to evaluate the effectiveness of biochar and biofertilizers in the growth and quality of cocoa seedlings in the nursery. The work was carried out from January to April 2020, in the grow house of the Instituto Superior Tecnológico Calazacón in Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. The treatments evaluated were T1: biochar, T2: biochar + biofertilizer, T3: biofertilizer, T4: compound fertilizer and T5: control treatment. Biochar was applied in doses of 20 g kg^{-1} of substrate. The biofertilizer was made up of a commercial microbial consortium composed of strains of fungi, bacteria, mycorrhizae and yeasts. A completely randomized design with four replicates was used. The experimental unit was made up of 20 CCN-51 cocoa seedlings. The main variables recorded were dry plant mass (g), leaf area (cm^2) and Dickson's quality index. The results showed significant statistical differences ($p<0.05$) among the treatments evaluated, highlighting the biochar + biofertilizer treatment with the highest growth rate in dry mass, leaf area and Dickson's quality index with 8.23 g, 497.82 cm^2 and 5.45, respectively, in relation to the other treatments evaluated. A significant ($p < 0.05$) and positive correlation was found between Dickson's quality index and the growth variables analyzed. The combined application of biochar and biofertilizers on the substrates can enhance the growth and quality of cocoa seedlings in the nursery.

Keywords: Biochar, efficient microorganisms, cocoa plants, nursery

INTRODUCCIÓN

Ecuador es el primer exportador mundial de cacao fino y de aroma (*Theobroma cacao* L.), rubro importante en la generación de trabajo, ingresos económicos y divisas para el país (Morales *et al*., 2018). Sin embargo, presenta los rendimientos más bajos de la región sudamericana y su cadena productiva presenta varios riesgos que merman su producción (Rodríguez y Fusco, 2017; FAO, 2019). En Ecuador, la cadena del cacao presenta serios problemas en la producción y productividad, que están vinculados al uso de tecnologías de manejo, enfermedades, uso de insumos, disponibilidad de semillas, prevalencia de plantaciones viejas, etc (Vassallo, 2015), razón por la cual el gobierno nacional ha promovido nuevas siembras y renovaciones del área cacaotera (MAG, 2017). En este sentido, para incrementar y renovar el área cultivada de cacao, se requiere de material de siembra de alta calidad que asegure la producción y longevidad del cultivo en campo (Gutiérrez *et al.,* 2011; Osorio *et al*., 2017).

Destacando la importancia de la calidad de las plántulas como un factor determinante en la producción de cultivos, es importante buscar alternativas que permitan obtener material de siembra de alta calidad en vivero (Davis y Jacobs, 2005; Karlen y Rice, 2015; Gomes y Miglioranza, 2015; Andrade y Sena, 2017). Investigaciones recientes sugieren que el uso de biochar y biofertilizantes puede mejorar notablemente el crecimiento y calidad de plántulas de cacao en vivero (Bahrun *et al*., 2020; Pélagie *et al*., 2020). En este contexto, Nduka y Adeniyi (2017) concluyeron que el uso de *Trichoderma harzianum* y *Streptomyces* spp, como degradadores de sustratos, mejoró notablemente el crecimiento de plántulas de cacao en vivero. De forma similar, Laode *et al.* (2018) demostraron que la cáscara de cacao descompuesta por *Lycoperdon* sp*,* y *Pleurotus* sp, estimuló significativamente el crecimiento de plántulas de cacao. Por otra parte, Pélagie *et al*. (2020), determinaron que en general, los biofertilizantes favorecen el desarrollo equilibrado de las plántulas de cacao en vivero, lo cual promueve un mejor desempeño en campo.

En cuanto al uso del biochar como medio de crecimiento de plántulas, varias investigaciones han concluido que su uso como parte del sustrato incrementó el crecimiento y calidad de plántulas de cacao en vivero, lo cual potencia su establecimiento, adaptación y producción en campo (Helliwell, 2015; Dewi *et al*., 2017; Bahrun *et al*., 2020). En Ecuador, existe poca información relacionada al uso de biochar y biofertilizantes de manera combinada como una alternativa para mejorar el crecimiento y calidad de plántulas de cacao en vivero, razón por la cual el trabajo realizado es justificable, para lo cual se estableció como objetivo principal evaluar la efectividad del biochar y biofertilizantes en el crecimiento y calidad de plántulas de cacao en vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El experimento se desarrolló desde enero a abril de 2020 en casa de cultivo del Instituto Superior Tecnológico Calazacón, ubicado en Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador, en las coordenadas geográficas X: 706257 y Y: 9972460, a una altitud de 578 msnm, con temperatura promedio anual de 24,9°C, precipitación promedio de 3052 mm anuales y heliofanía de 780 horas año^{-1}.

Material de siembra

Para la siembra se utilizaron semillas de cacao CCN-51, las cuales fueron establecidas en bolsas de polietileno de 6 x 9 pulgadas, que previamente se llenaron con sustrato compuesto por tierra de capa arable, arena de río y compost en proporción 3:1:1.

Tratamientos

- T1: Biochar + fertilizante compuesto
- T2: Biochar + biofertilizante + fertilizante compuesto
- T3: Biofertilizante + fertilizante compuesto
- T4: Fertilizante compuesto
- T5: Control (sin biochar, sin biofertilizante y sin fertilizante compuesto).

Aplicación de tratamientos

El biochar se aplicó en dosis de 20 g kg^{-1} de sustrato, el mismo que se agregó al momento de la preparación del sustrato. El biofertilizante utilizado fue un consorcio comercial a base de cepas de micorrizas *Acalulospora* spp, *Glomus* spp, *Sclerocystis* spp (200 millones UFC mL^{-1}), hongos *Trichoderma* spp (30 mil millones UFC mL^{-1}), bacterias *Azospirillum* spp (100 millones UFC mL^{-1}), *Azotobacter* spp. (42 millones UFC mL^{-1}), *Bacillus* spp (300 millones UFC mL^{-1}), *Pseudomona* spp. (100 millones UFC mL^{-1}), y la levadura *Sacharomyces cerevisae* (140000 UFC mL^{-1}). El consorcio microbiano se aplicó en dosis de 5 mL L^{-1} de agua, y de esa solución se agregó 100 mL planta^{-1} al momento de la siembra de las semillas en el sustrato y 15 días después de la emergencia de las plántulas. Independientemente de los tratamientos basados en biochar y biofertilizantes, todas las plántulas fueron fertilizadas con un fertilizante compuesto en dosis de 5 g planta^{-1}. La composición del fertilizante utilizado fue 12% de N, 19% de P_2O_5, 18% de K_2O, 2,7% de MgO, 20% de SO_4, 0,02% de Mn, 0,015% de B, 0,2% de Fe y 0,02% de Zn.

Diseño experimental y análisis de datos

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cinco tratamientos, cuatro réplicas y 20 unidades experimentales. La unidad experimental estuvo conformada por 20 plántulas.. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza al 5% de probabilidades de error, y la prueba de separación de medias con Tukey al 5% de probabilidades de error. Además, se realizó análisis de correlaciones entre variables de crecimiento y calidad de las plántulas.

Variables respuesta

Todas las variables fueron registradas a los 90 días después de la emergencia de las plántulas. Las variables registradas fueron altura de planta (cm), la cual se midió con una cinta métrica desde la base del sustrato hasta la última hoja; el diámetro de tallo (mm) fue registrado a nivel del sustrato con la ayuda de un calibrador; la longitud radical (cm) fue tomada desde el cuello del tallo hasta el ápice de la biomasa radical con la ayuda de una cinta métrica. Para el registro de la masa seca (g), las plántulas fueron sometidas a secado en estufa a 70°C hasta alcanzar peso constante y luego se registró el peso con ayuda de una balanza analítica de precisión; además, también se registró el peso seco de la parte aérea y radical de las plántulas con la finalidad de determinar el índice de calidad de Dickson que integra a estas variables. El área foliar (cm^2) fue registrada con la metodología del sacabocado, donde se relaciona el área de un cuadrante de hoja de 2 x 2 cm (4 cm^2) con su peso seco determinado en estufa. Finalmente, el índice de calidad de Dickson (ICD) fue estimado con la ecuación [1] propuesta por Dickson *et al.* (1960):

$$ICD = \frac{Masa\ seca\ total\ (g)}{\frac{Altura\ de\ planta\ (cm)}{Diámetro\ de\ tallo\ (mm)} + \frac{Masa\ seca\ aérea\ (g)}{Masa\ seca\ radical\ (g)}} \quad [1]$$

El índice de calidad de Dickson integra varias características morfológicas de las plantas que definen su potencial de adaptación y sobrevivencia en campo, por lo cual a mayor índice de calidad de Dickson en vivero supone un mayor potencial de producción del cultivo (Birchler *et al*., 1998; Davis y Jacobs, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El crecimiento de las plántulas de cacao fue influenciado significativamente por los tratamientos probados (Cuadro 1), donde el tratamiento biochar + biofertilizante alcanzó el mayor incremento en altura de planta, superando en 63, 29, 23 y 11% a los tratamientos control, biochar, fertilizante compuesto y biofertilizante, respectivamente. De forma similar, el tratamiento a base de biochar + biofertilizante mostró un incremento en diámetro de tallo del 46, 19, 17 y 7%, con relación a los tratamientos control, fertilizante compuesto, biochar y biofertilizante, respectivamente (Cuadro 1). La longitud radical también fue mayormente afectada por el tratamiento biochar + biofertilizante, que superó a los tratamientos control, biochar, fertilizante compuesto y biofertilizante con 67, 23, 19 y 16%, respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de biochar y biofertilizante sobre el crecimiento de plántulas de cacao en vivero. Santo Domingo, Ecuador, 2020

Tratamientos	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Longitud de raíces (cm)
Biochar + Biofertilizante	34,67 a	9,00 a	40,19 a
Biofertilizante	30,71 ab	8,36 a	33,71 a
Fertilizante compuesto	26,61 bc	7,33 a	32,62 a
Biochar	24,66 c	7,45 a	30,85 b
Control	12,93 d	4,83 b	13,24 c
C.V. %	9,85	11,30	13,38
p-valor ANOVA	0,0001	0,0001	0,0001

1/ Medias dentro de columnas con letras distintas difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% de probabilidades de error.

Los resultados obtenidos con altura de planta, diámetro de tallo y longitud radical, muestran que tanto el biochar, el biofertilizante y su combinación promueven un mejor desarrollo aéreo y radical de las plántulas de cacao, lo cual se asemeja a los resultados alcanzados por Nduka y Adeniyi (2017), Dewi *et al*. (2017), Bahrun *et al*. (2018), Laode *et al*. (2018) y Pélagie *et al*. (2020), quienes reportaron un incremento significativo de la altura de planta, diámetro de tallo y crecimiento radical en plántulas de cacao en vivero, con diferentes tratamientos a base de biochar y biofertilizantes, en relación a tratamientos convencionales de fertilización. En este sentido la figura 1, muestra el efecto de los tratamientos utilizados sobre el desarrollo radical de plántulas de cacao a los 90 días de crecimiento en vivero, se aprecia un claro incremento de la biomasa radical con la combinación biochar + biofertilizante (Figura 1 A).

Figura 1. Efecto de biochar + biofertilizante (A), biofertilizante (B), biochar (C), fertilizante compuesto (D) y control (E) sobre el desarrollo radical de plántulas de cacao a los 90 días de crecimiento en vivero. Santo Domingo, Ecuador, 2020.

La masa seca de planta fue influenciada estadísticamente por los tratamientos utilizados (Gráfico 1), donde la combinación biochar + biofertilizante alcanzó el mayor valor de masa seca con 8,23 g $planta^{-1}$, en relación a los

tratamientos de biofertilizante, fertilizante compuesto, biochar y control que alcanzaron una masa seca promedio de 6,89; 6,21; 4,26 y 2,79 g planta^{-1}, respectivamente.

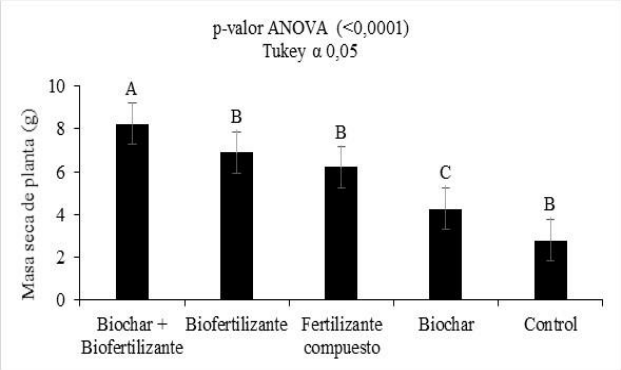

Gráfico 1. Efecto de biochar y biofertilizante sobre la masa seca de plántulas de cacao en vivero. Santo Domingo, Ecuador, 2020.

Los resultados logrados en cuanto a masa seca de planta, son similares a los obtenidos por Bahrun *et al.* (2017), quienes reportaron incrementos significativos de masa seca de planta con tratamientos de biochar, en relación al tratamiento control que obtuvo 1,39 y 4,53 g de masa seca aérea y radical planta^{-1}, respectivamente. De forma similar Dewi *et al.* (2017), reportaron que la aplicación de biochar en combinación con fertilizantes orgánicos aumentó efectivamente el peso seco de las hojas y el peso seco total de las plántulas de cacao. Por su parte, Laode *et al.* (2018), concluyeron que el efecto de la aplicación de cáscara de mazorca de cacao degradada por hongos fue comparable con el fertilizante inorgánico para promover el incremento del peso seco de las plántulas de cacao. De la misma forma, Pélagie *et al.* (2020) indicaron que en general, la inoculación de biofertilizantes micorrízicos en los sustratos incrementó la masa seca de plántulas de cacao en vivero, en comparación con las plantas tratadas de manera convencional. Lo anteriormente descrito, evidencia que el uso de biochar y biofertilizantes como medio para el desarrollo de plántulas en vivero, es efectivo para potenciar el crecimiento temprano de plántulas de cacao.

Los tratamientos evaluados también influyeron significativamente el área foliar (Gráfico 2), donde la combinación biochar + biofertilizante logró el mayor promedio de área foliar con 497,82 cm^2 planta^{-1}, en contraste con los tratamientos biofertilizante, fertilizante compuesto, biochar y control con 435,31; 454,56; 274,50 y 133,02 cm^2 planta^{-1} de área foliar, respectivamente. En este contexto, los resultados logrados son cercanos a los alcanzados por Bahrun *et al.* (2017) y Nduka y Adeniyi, (2017) quienes reportaron incrementos significativos de área foliar de plántulas de cacao en vivero, con sustratos enriquecidos e inoculados con biochar y biofertilizantes.

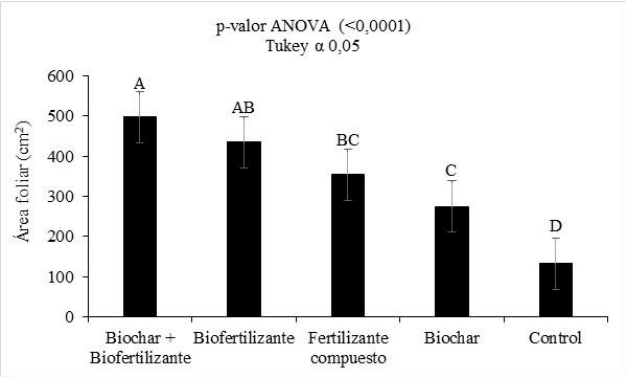

Gráfico 2. Efecto de biochar y biofertilizante sobre el área foliar de plántulas de cacao en vivero. Santo Domingo, Ecuador, 2020.

Lo anterior indica que los sustratos enriquecidos e inoculados con biochar y biofertilizantes, pueden mejorar las condiciones de crecimiento de las plántulas, lo cual puede potenciar el desarrollo foliar y por ende la actividad fotosintética. En este sentido, Bahrun *et al.* (2017) y Pélagie *et al.* (2020) reportaron que el uso de biochar y biofertilizantes como medio de crecimiento de plántulas de cacao en vivero, incrementó la producción de hojas y la concentración de clorofila en las mismas, el cual es el principal pigmento fotosintético.

Los valores del índice de calidad de Dickson fueron modificados significativamente por los tratamientos probados (Gráfico 3), donde la combinación biochar + biofertilizante alcanzó el mayor índice de calidad con 5,45, en relación a los tratamientos biofertilizante, biochar, fertilizante compuesto y control con 5,17; 3,89; 3,84 y 1,49; respectivamente. Lo anterior indica que el uso de biochar como parte integral de los sustratos y la inoculación de microorganismos como biofertilizantes se presentan como una alternativa para conseguir plántulas más robustas y de alta calidad fisiológica (Bahrun *et al.*, 2020; Pélagie *et al.*, 2020).

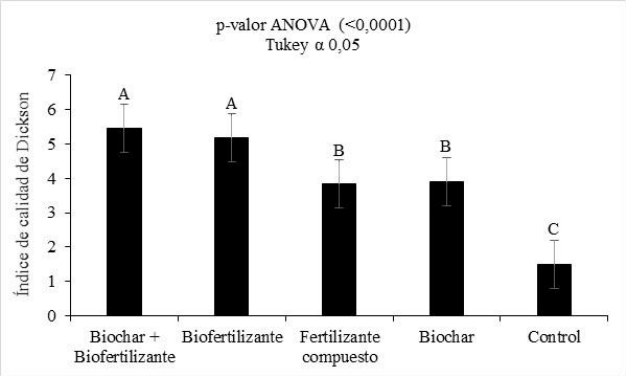

Gráfico 3. Efecto de biochar y biofertilizante sobre el índice de calidad de Dickson de plántulas de cacao en vivero. Santo Domingo, Ecuador, 2020.

En plántulas de cacao el potencial del índice de calidad de Dickson ha sido demostrado en investigaciones recientes como un buen indicador para la selección de plántulas a nivel de vivero (Alves *et al*., 2018; Sampaio *et al*., 2019). En este contexto el cuadro 2, muestra una correlación significativa y positiva entre las principales variables morfológicas y el índice de calidad de Dickson de plántulas de cacao a los 90 días de crecimiento en vivero. Este resultado se asemeja a los obtenidos por Alves *et al*. (2018) quienes reportaron una correlación positiva y significativa entre el índice de calidad de Dickson y la masa seca de la raíz de plántulas de cacao a los 90 y 120 días después la siembra en vivero.

Cuadro 2. Relación entre el crecimiento y calidad de plántulas de cacao a los 90 días de crecimiento en vivero. Santo Domingo, Ecuador, 2020

	AP (cm)	DT (mm)	LR (cm)	MS (g)	AF (cm^2)
ICD	R 0,88 p 0,0001	R 0,87 p 0,0001	R 0,83 p 0,0001	R 0,91 p 0,0001	R 0,85 p 0,0001

AP = Altura de planta; DT = Diámetro de tallo; LR = Longitud radical; MS = Materia seca; AF = Área foliar; ICD = Índice de calidad de Dickson
R = Coeficiente de correlación de Pearson
p-valor de las correlaciones $\alpha \leq 0.05$

Algo relevante de destacar con los resultados obtenidos, es que el uso de biochar y biofertilizantes como sustratos y abonos orgánicos potencian el efecto de la fertilización mineral de las plántulas, puesto que en todas las variables evaluadas el tratamiento a base de biochar + biofertilizante superó ampliamente al tratamiento de fertilización convencional. En este sentido, los resultados se relacionan a los reportados por Famuwagun y Titilayo (2016) y Fidelis y Rao (2017), quienes concluyeron que los abonos orgánicos mejoró la asimilación de nutrientes en plántulas de cacao. Por otra parte, investigaciones desarrolladas por Dewi *et al*. (2017), Nduka y Adeniyi (2017); Laode *et al*. (2018) y Bahrun *et al*. (2017; 2020) demostraron que el efecto del biochar y biofertilizantes aumentaron la disponibilidad de nutrientes en el suelo para las plántulas de cacao, además de incrementar la CIC y la disponibilidad de cationes intercambiables, lo cual podría explicar como el biochar y biofertilizantes aumenta el crecimiento y calidad de las plántulas de cacao en vivero. Por otra parte, se ha demostrado que el biochar al poseer microporos crea condiciones adecuadas para que los microorganismos del suelo incrementen su población y estos a su vez promueven mayor disponibilidad de nutrientes minerales y sustancias de crecimiento para las plantas, además de contribuir a mejorar las condiciones físicas y químicas del suelo (Ajema, 2018; Gorovtsov *et al*., 2019; Hardy *et al*., 2019).

CONCLUSIONES

El biochar y biofertilizantes fueron eficientes para promover mayores tasas de crecimiento y calidad de plántulas de cacao en vivero. El tratamiento más efectivo para potenciar el crecimiento y calidad de plántulas de cacao en vivero fue la combinación de biochar + biofertilizantes + fertilizante compuesto. El biochar y biofertilizantes mejoraron el efecto de la fertilización mineral convencional de las plántulas de cacao en vivero. El índice de calidad de Dickson se correlacionó positivamente con el crecimiento de las plántulas de cacao en vivero.

LITERATURA CITADA

Alves, R.; Gomes, G.; Malta, E.; Andrade, G.; do Sacramento, C. 2018. Manejo de matrizes interfere no rendimento e na qualidade de mudas de cacaueiros. Rev. Bras. Frutic. 40(3): 1 – 8.

Andrade, G.; Sena, A. 2017. Propagação de cacaueiro e tecnologias para produção de mudas clonais. Rev. Bras. Frutic. 41(2): 1 – 22.

Ajema, L. 2018. Effects of Biochar Application on Beneficial Soil Organism: Review. International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology 5(5): 9 – 18.

Bahrun, A.; Yunus, M.; Safuan, L.; Harjoni, L.; Singh, R. 2017. Effects of Cocoa Pod Husk Biochar on Growth of Cocoa Seedlings in Southeast Sulawesi-Indonesia. Asian Journal of Crop Science 10: 22 – 30.

Bahrun, A.; Mardani. T.; Rakian, C.; Nuriadi.; Madiki, A. 2020. Effect of Different Types of Biochar on Growth of Cocoa Seedlings (Theobroma cacao L.). Asian Journal of Crop Science 12: 12 – 18.

Birchler, T.; Royo, A.; Pardos, M. 1998. La planta ideal: revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica. Invest. Agr.: Sist. Recur. For. 7(1 y 2): 109 – 121.

Davis, A. and Jacobs, D. 2005. Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. New Forests 30:295–311.

Dewi, K.; Anas, I.; Anwar, S.; Yahya, S.; Djajakirana, G. 2017. International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR) 36(5):261-273.

Dickson, A.; Leaf, A. L.; Hosner, J. F. 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. Forestry Chronicle 36:10-13.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2019. Disponible en: http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC (Consultado 4 de junio de 2019).

Famuwagun, I. y Titilayo, O. 2016. Influence of Varying Rates of Fertilizers on the Performance of Cacao (*Theobroma cacao*) Seedlings in the Nursery. International Letters of Natural Sciences 58: 54-59.

Fidelis, C.; Rao, B. 2017. Enriched cocoa pod composts and their fertilizing effects on hybrid cocoa seedlings. Int J Recycl Org Waste Agricult 6:99–106.

Gomes, C. and Miglioranza, E. 2015. Quality levels of organic coffee seedlings in black and white nonwoven fabric (NWF) containers of various sizes. African Journal of Agricultural Research 10(9): 86-89.

Gutiérrez, M.; Gómez, R. y Rodríguez, N. 2011. Comportamiento del crecimiento de plántulas de cacao (T*heobroma cacao* L.), en vivero, sembradas en diferentes volúmenes de sustrato. Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu. 12(1): 33-42.

Gorovtsov, A.; Minkina, T.; Mandzhieva, S.; Perelomov, L.; Soja, G.; Zamulina, I.; Rajput, V.; Sushkova, S.; Mohan, D.; Yao, Y. 2019. The mechanisms of biochar interactions with microorganisms in soil. Environ Geochem Health 42: 2495–2518.

Hardy, B.; Sleutel, S.; Dufey, J.; Cornelis, J. 2019. The Long-Term Effect of Biochar on Soil Microbial Abundance, Activity and Community Structure Is Overwritten by Land Management. Front. Environ. Sci. 7:110.

Helliwell, R. 2015. Effect of biochar on plant growth. Arboricultural Journal 37(4): 238–242.

Karlen, D.; Rice, C. 2015. Soil Degradation: Will Humankind Ever Learn?. Sustainability 7:12490-12501.

Laode, A.; Rahim, I.; Kuswinanti, T.; Rasyid, B.; Nasruddin, A. 2018. Effect of Cocoa Pod Husk Compost Produced Using Rot Fungi on the Growth of Cocoa Seedlings. OnLine Journal of Biological Sciences 18 (1): 69-73.

MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2017. Boletín situacional Cacao. Sistema de Información Pública Agropecuaria (SIPA). Quito, Ecuador. 6 p.

Morales, F.; Carrillo, M.; Ferreira, J.; Peña, M.; Briones, W. y Albán, M. 2018. Cadena de comercialización del cacao nacional en la provincia de Los Ríos, Ecuador. Ciencia y Tecnología 11(1): 63-69.

Nduka, B.; Adeniyi, D. 2017. Amelioration of cacao seedlings with bio – degraded coffee husk for enhanced nursery performance. African Journal of Agricultural Research 12(15): 1332-1340.

Osorio, M.; Leiva, E. y Ramírez, R. 2017. Crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en diferentes tamaños de contenedor. Rev. Cienc. Agr. 34(2): 73-82.

Pélagie, D.; Jules, N.; Philippe, K.; Eddy, N. 2020. Evaluation of the Inoculation Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Growth of Cocoa Seedlings (Theobroma cacao L.) in the Nursery. International Journal of Sciences 9(07): 6 - 13

Rodríguez, D. y Fusco, M. 2017. Gestión de riesgos agropecuarios en el sector del cacao en Ecuador. Revista de Investigación en Modelos Financieros 1(1).57-74.

Sampaio, E.; Prucoli, R.; Ferreira, S.; de Souza, V.; Valani, F.; Lima, R.; de Moura, I.; Spaggiari, S.; Prucoli, S.; Silva, G.; Schmildt, O.; Romais, E. 2019. Growth and Quality of Genotype PS-1319 Cacao Seedlings Produced Under Different Irrigation Depths. Journal of Agricultural Science 11(16): 238 – 247.

Vassallo, M. 2015. Diferenciación y agregado de valor en la cadena ecuatoriana del cacao / Miguel Vassallo. — 1ª. ed. — Quito: Editorial IAEN, 156 p.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

INCLUSIÓN DE COMPOST DE CAMA PROFUNDA PORCINA EN ALIMENTACIÓN DE VAQUILLAS MESTIZAS DE DOBLE PROPÓSITO

INCLUSION OF SWINE DEEP-BED COMPOST IN THE DIET OF DUAL-PURPOSE MONGREL HEIFERS

Carlos Octavio Larrea Izurieta, Jorge Ignacio Macías Andrade, Carlos Jesús Alcívar Cedeño, Luis Stiven Marcillo Cevallos

Carrera de Medicina Veterinaria, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, km 2.7 vía Calceta-El Morro-El Limón, sector el Gramal.

Email: colirbba@hotmail.com

Información del artículo

Tipo de artículo:
Artículo original

Recibido:
24/08/2020

Aceptado:
16/12/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA
11(2):101-107

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.222

Resumen

Se evaluó la inclusión de compost de cama profunda (CP) de cascarilla de arroz y porquinaza en la alimentación de vaquillas cruzadas de doble propósito. Para ello se utilizaron 18 vaquillas alimentadas con CP procesada en 12 meses obtenidos de la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Hato Porcino de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López". Se aplicó un DCA con arreglo bifactorial [primer factor: edad (menor a 25 meses de edad y mayor a 25 meses de edad y preñadas de diferente tiempo de gestación); segundo factor: niveles de compost de CP (0%, 10% y 20%)], se consideró como covariable al peso inicial. La composición nutricional del compost de CP fue determinada mediante un análisis proximal con 5,71% de proteína cruda y 1,06 Mcal/Kg MS de energía neta de ganacia de peso. No se encontraron diferencias significativas (P>0,05) en cada factor y en la interacción de estos, el grupo de animales menores de 25 meses de edad, tuvo un mejor peso promedio al final de la investigación con 308,48 Kg (±2,24), a la vez que los animales que fueron alimentados con una dieta que incluyó 20% de CP tuvieron un peso medio de 310,18 Kg (±2,10). Se concluye que la inclusión de compost con 20% CP en la alimentación de vaquillas menores de 25 meses no desfavorece la ganancia de peso y conversión alimenticia.

Palabras clave: Cerdaza, cascarilla de arroz, suplementación, rumiantes.

Abstract

This study evaluated the inclusion of deep bedding compost (DB) of rice husks and swine manure in the feeding of dual-purpose cross heifers. For this purpose, 18 heifers fed with DB processed in 12 months were used, obtained from the Teaching, Research and Outreach Unit of the Porcine Herd of the Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López". We applied a CRD with bifactorial arrangement [first factor: age (less than 25 months old and more than 25 months old and pregnant females at different stages of pregnancy); second factor: compost levels of DB (0%, 10% and 20%)], which was considered as covariable to the initial weight. The nutritional composition of DB compost was determined through a proximal analysis with 5.71% of raw protein and 1.06 Mcal/Kg MS of net energy of weight gain. No significant differences were found (P>0.05) among treatments and their interactions. The group of animals under 25 months of age had a better average weight at the end of the research with 308.48 kg (±2.24), while animals that were fed a diet that included 20% of DB had an average weight of 310.18 kg (±2.10). It is concluded that the inclusion of compost with 20% DB in the feeding of heifers under 25 months old does not affect weight gain and feed conversion.

Keywords: Swine manure, rice husks, supplementation, ruminants.

INTRODUCCIÓN

La alimentación animal en el medio se ve limitado en algunas épocas por la escasez de pasturas o de materias primas para la elaboración del alimento balanceado o concentrado, por lo que se elevan los costos de producción y/o no se llegan a cumplir con los requerimientos nutricionales de las especies zootécnicas, donde afecta su desarrollo, producción de carne, leche y levante de las crías. Paralelamente a esto, la producción porcina genera excretas, que, además de servir como abono para fertilizar los suelos, sirven también para la alimentación animal; algunas investigaciones, indican que estas poseen algunos nutrientes de alto valor biológico que son utilizados por los rumiantes (Castrillón *et al.,* 2004; Parra *et al.,* 2007; Heredia, 2012).

A nivel mundial, el interés que ha tomado la crianza de especies bóvidas de interés zootécnico, ha encaminado a desarrollar alternativas de alimentación para los animales; sin embargo, el campo nutricional se desarrolla concomitantemente con la innovación informática y permanentemente alcanza nuevos niveles técnicos y científicos para la formulación de raciones, donde resulta más eficientes los sistemas de producción, donde se obtiene mayor cantidad de leche y carne de calidad y menores costos de la misma (FAO, 2018).

Ninabanda (2012) reporta que para aprovechar los contenidos nutricionales que se encuentran en la porquinaza, sería posible utilizar dicha materia orgánica como alternativa la conversión a proteína unicelular, luego de un proceso de descomposición natural, el cual, al eliminar los olores es posible utilizarlo en la nutrición de rumiantes. La porquinaza está compuesta por heces fecales y orina en unión al material que se emplea como cama (cascarilla de arroz), restos de alimento (balanceado), otras partículas y una cantidad de agua resultante de las pérdidas de los bebederos (Castrillón *et al.*, 2004).

Según Fontemont *et al.* (1983) citados por Campabadal, (1994) describen que la porquinaza también es una fuente reconocida de proteína y minerales; de la misma forma Campabadal (1994) describe que en la composición de la porquinaza, el nutriente que más varía es la proteína, donde se han reportado pérdidas por volatilización de nitrógeno (N), valores que fluctúan desde 11,62% hasta 32,5%.; Lawrence (1971) y Sistani *et al.* (2001) citados por Jacobs *et al.* (2011) reportaron que disminuye la concentración de N en las heces cuando son secadas y cuando aumenta la temperatura. La mayor parte del fosforo (P) en las heces de los cerdos alimentados con granos de cereales, está presente en las excretas en forma de fosfato y solo pequeñas cantidades de fitato, a excepción de la dieta con maíz, en la que encontraron que el 45% del P total de las excretas estaba en forma de fitato (Leytem y Thacker, 2010).

Croker y Robinson (2002), argumentan que la genética influye en la cantidad de nutrientes excretados, las líneas maternas excretan en cantidades más bajas de todos los nutrientes (excepto amoniaco), que los cerdos F1 y de línea paterna, relacionado con un menor crecimiento de los cerdos del cruce Landrace x Large White. En la raza Pietrain, el efecto del genotipo halotano, codifica para un receptor del músculo esquelético, provocando en animales homocigotos recesivos y heterocigotos "mutante" una gran frecuencia de carnes pálidas, blandas y exudativas de muy baja calidad en la industria cárnica, adicional a esto, este gen tiene influencia sobre la excreción de N y P, demostrando que los puros homocigotos recesivos y los heterocigotos para este gen, excretan menor concentración de N y P en comparación con los puros homocigotos dominantes (Saintilan *et al.*, 2013).

Padilla *et al.* (2000) advierten que existen ciertos riesgos por el empleo de las excretas de aves y cerdos; por cuanto constituye un peligro sanitario para algunas especies animales y para el mismo hombre, ya que es natural que las excretas contengan elevadas cantidades de bacterias y hongos, por lo tanto, se deben tomar precauciones para evitar riesgos sanitarios; sin embargo, esta elevada presencia de microorganismos en las excretas no se considera como un peligro para la salud de los rumiantes que la consumen; ya que las condiciones de la fermentación que prevalecen en el rumen resultan ser adversas para la supervivencia de los microorganismos.

La FAO (2018), manifiesta que en América al igual que en todo el mundo, existe la necesidad de desarrollar tecnologías que permitan utilizar los recursos del medio, principalmente las excretas de los cerdos en la cama profunda, la misma que al ser manejada correctamente se aprovecha su valor nutricional en favor de la alimentación de rumiantes y por ende cumplir con los requerimientos nutricionales de los mismos a fin incrementar la producción y que los costos de producción no afecten al precio del producto terminado. Para la presente investigación se planteó como hipótesis nula que el promedio de las variables es igual entre grupos etarios y entre cada nivel de inclusión de compost de cama profunda de cascarilla de arroz y porquinaza (CP) y como objetivo evaluar el efecto de la inclusión de compost de cama profunda utilizada en la crianza de cerdos sobre la ganancia de peso de vaquillas mestizas de doble propósito.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y duración del experimento

El desarrollo de esta investigación se realizó entre enero y marzo del 2019 con una duración de 10 semanas en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación (UDIV) Hato Bovino de la carrera de Medicina Veterinaria perteneciente a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López" (ESPAM-

MFL), ubicada en el sitio El Limón cantón Bolívar, provincia de Manabí, en las coordenadas 0°49´23" de latitud Sur y a 80°11´01" de longitud Oeste, a una altura de 15 msnm. En el transcurso de la investigación las variables climáticas promediaron en 26°C, con humedad relativa de 81,40% y una precipitación media anual de 782,6 mm.

Unidades experimentales

Se utilizaron 18 vaquillas mestizas de doble propósito de diferente composición racial con base Gyr y Pardo Suizo, distribuidas en grupos en función de la edad en grupo 1 menores a 25 meses de edad con promedio de peso de 248,89 Kg (±38,17) y grupo 2 mayores a 25 meses de edad y preñadas de diferente tiempo de gestación con media de peso de 318,11 Kg (±28,67), a las que se alimentó con raciones de balanceado con inclusiones de 0, 10 y 20% de compost de cama profunda porcina (CP) en tres repeticiones. Los animales fueron alimentados una vez al día en horas de la tarde en corrales individuales de $3m^2$, el resto del día consumieron pasto saboya (*Panicum máximum*).

Procedimiento experimental

Tres días antes de iniciar el ensayo, se procedió con la limpieza y desinfección de los corrales con agua y detergente y posteriormente se roció con una bomba de mochila con amonio cuaternario (CID-20 ®Carval), aplicando una dilución de 2,5ml/l de agua. Se alimentó a los animales a partir de las 14H00 con una ración de 1,0Kg/d/animal con alimento balanceado de adaptación (Sin CP) durante 15 días y posteriormente se suministró 1,5Kg/d/animal de alimento balanceado durante ocho semanas según el tratamiento correspondiente, incluyendo en la dieta CP de la UDIV Hato Porcino de la ESPAM-MFL, el mismo que tuvo un proceso natural de compostaje de alrededor de un año.

Previo a la preparación del alimento, se determinó el valor nutritivo de CP con muestras enviadas al laboratorio de servicio de análisis e investigación en alimentos del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), acantonado en la Estación Experimental Santa Catalina en la provincia de Pichincha, en la que se realizó un análisis proximal de humedad (Método MO-LSAIA-01.01), cenizas (Método MO-LSAIA-01.02), extracto etéreo (Método MO-LSAIA-01.03), proteína cruda (Método MO-LSAIA-01.04), fibra cruda (Método MO-LSAIA-01.05) y extracto libre de nitrógeno (Método MO-LSAIA-01.06), considerando en todos el método de referencia de la Universidad de Florida 1970. La energía neta de ganancia de peso (ENg) fue calculada a través de ecuaciones a partir de la cantidad de fibra cruda encontrada en el análisis proximal de CP, previo a este cálculo se estimó nutrientes digeribles totales (NDT), energía digerible (ED) y energía metabolizable (EM).

$$NDT = 710 - 0{,}43\ FC \text{ (Donker, 1989) (1)}$$

Donde:
NDT= Nutrientes digeribles totales (g/Kg de materia seca)
FC = Fibra cruda (g/Kg de materia seca)
MS = Materia seca

$$1Kg\ NDT = 4{,}409*ED \text{ (Weiss, 1993) (2)}$$

Donde:
NDT= Nutrientes digeribles totales (Kg)
ED = Energía digerible (Mcal/Kg de materia seca)

$$EM = -\ 0{,}45 + 1{,}01*ED \text{ (Weiss, 1993) (3)}$$

Donde:
EM= Energía metabolizable (Mcal/Kg de materia seca)
ED = Energía digerible (Mcal/Kg de materia seca)

$$ENg = 1{,}42*EM - 1{,}74*EM^2 + 0{,}0122\ EM^3 - 1.65 \text{ (NRC, 2001) (4)}$$

Donde:
ENg = Energía neta de ganancia de peso (Mcal/Kg de materia seca)
EM= Energía metabolizable (Mcal/Kg de materia seca)

El alimento se elaboró de acuerdo al peso y a los requerimientos nutricionales recomendados por la NRC (2000), el mismo que se preparó en la planta de balanceados de los talleres agroindustriales de la UDIV de la ESPAM-MFL, en el que se consideró cada uno de los niveles de inclusión de CP en la dieta experimental correspondiente como se observa en el cuadro 1.

Cuadro 1. Composición de materias primas (%) de las dietas experimentales.

Ingredientes	Nivel de inclusión		
	0%	10%	20%
Maíz nacional	15,00	12,50	9,57
Afrecho de trigo	30,00	23,98	24,42
Polvillo de arroz	19,86	30,00	30,00
Palmiste	10,00	10,00	10,00
Melaza de caña	22,50	11,84	4,97
Sal mineral	0,62	0,00	0,00
Carbonato de calcio	2,00	1,69	1,04
Compost de cama profunda	0,00	10,00	20,00
Total	100,00	100,00	100,00

Dentro de cada grupo etario los animales fueron distribuidos aleatoriamente en cada unidad experimental

con su respectivo nivel de inclusión de CP; todos los tratamientos fueron sometidos al mismo manejo.

El alimento se distribuyó individualmente a cada animal en comederos. Los animales fueron pesados semanalmente en una báscula electrónica (Tru-Test MP 600 ® Eeighing & Eid) con capacidad hasta 2000 Kg ubicado dentro de un trinquete de sujeción de 2 m de longitud por 0,80 m de ancho en la UDIV Hato Bovino de la ESPAM-MFL.

Diseño experimental

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado con arreglo bifactorial considerando como primer factor dos grupos etarios y como segundo factor tres niveles de inclusión de CP; se incluyó como covariable el peso inicial para las variables ganancia de peso y conversión alimenticia, valores que fueron procesados por medio del paquete estadístico InfoStat (2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del contenido nutricional del CP

Los resultados obtenidos de la composición de CP utilizada en la alimentación de vaquillas mestizas de doble propósito luego de un proceso de compostaje por un lapso de 12 meses aproximadamente, tomando en considerando que contenía un alto porcentaje de cascarilla de arroz, los valores nutricionales resultaron bajos (cuadro 2), en comparación a otras investigaciones que utilizaron porquinaza pura. La composición nutricional de la porquinaza es afectada principalmente por las variaciones en la formulación de las dietas utilizadas, el método de procesamiento y manejo del producto, la etapa productiva, el ambiente, el manejo de los cerdos y el método de recolección (Castrillón *et al.*, 2004; Campabadal, 1995 citado por Ávalos, 2014).

Cuadro 2. Análisis proximal de la cama profunda porcina

Nutrientes	CP*	Romero (2016)	Ávalos (2014)
Humedad (%)	9,62	7,99	18,68
Cenizas (%)	66,84	18,25	7,66
Extracto Etéreo (%)	0,34	6,95	2,98
Proteína cruda (%)	5,71	23,26	11,68
Fibra cruda (%)	7,07	13,72	11,58
Extracto libre de nitrógeno (%)	20,05	29,83	56,59
Energía neta ganancia de peso (Mcal/kg) **	1,06	---	---

*Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (2018); ** Valor calculado.

La porquinaza en etapas de inicio, presenta un elevado contenido de proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), carbohidratos no estructurales (CNE) y energía que la porquinaza de los animales reproductores (gestantes y lactantes) debido al mayor uso de los nutrimentos de la dieta por parte de los cerdos jóvenes (Castrillón *et al.*, 2004). Estos resultados podrían estar relacionados con el nivel de proteínas que requieren los animales jóvenes, y podría atribuirse a que muchos nutrientes no son asimilados en su totalidad y son excretados mediante heces y orina y adicional se considera los desperdicios del alimento en la CP.

Efecto de la inclusión de CP sobre el peso.

En el cuadro 3, se observa que no se evidenciaron diferencias significativas (p>0,05) entre los grupos etarios durante las ocho semanas que duró la investigación; sin embargo, se reportan pesos finales similares de 309,41Kg (±2,24) y 308,48 (±2,24) para las vaquillas menores a 25 meses de edad y mayores a 25 meses de edad en su orden.

Cuadro 3. Peso semanal en función del grupo etario (Kg)

Semana	Edad		p-valor
	< 25 meses	> 25 meses	
1	283,02 (±2,48)	282,21 (±2,48)	0,8492
2	286,97 (±2,40)	287,53 (±2,40)	0,8939
3	297,44 (±2,88)	291,56 (±2,88)	0,2502
4	300,21 (±2,78)	297,18 (±2,78)	0,5295
5	302,79 (±2,92)	302,65 (±2,92)	0,9786
6	305,70 (±3,02)	304,58 (±3,02)	0,8296
7	307,66 (±2,55)	307,34 (±2,55)	0,9401
8	309,41 (±2,24)	308,48 (±2,24)	0,8089

p-valor = Valor de probabilidad

Morales *et al.* (2002) citados por Ramírez (2015), reportan que los pesos en vaquillas presentaron comportamiento lineal (sin variabilidad de datos) para cada uno de los tratamientos aplicado (solo pasto, pollinaza, porquinaza y balanceado comercial), lo cual concuerda con los resultados de esta investigación por un efecto normal del desarrollo de los animales jóvenes y la ganancia de peso de los animales adultos. Romero (2016) indica que la porquinaza es considerada una reconocida fuente de proteína y minerales que puede ser aprovechada todo el año lo cual explica el efecto de la proteína en una mejor ganancia de peso en animales jóvenes, considerando que al momento de iniciar la investigación los pesos fueron variados y la condición corporal promedio alrededor de 2 a 2,5 en la escala de 1 a 5 para bovinos de leche propuesta por Yukun *et al*. (2019).

El INIA (2006) revela que mientras más avanzada la edad, el aumento de peso en el animal adulto estará representado por una mayor proporción de grasa en la composición química de la ganancia de peso y en jóvenes estará dado por una mayor proporción de proteína (músculo) en desmedro de la grasa; el depósito de grasa en el cuerpo, le significa al animal un mayor costo energético que si deposita proteína, por ello, los animales adultos deben aumentar su consumo de alimentos para compensar su mayor ineficiencia en el uso de energía.

Cerdas (2013) indica que el mantenimiento y crecimiento de los bovinos requiere proteína verdadera absorbida en el intestino y energía en los tejidos en proporciones adecuadas, además de la edad animal ya que si son animales jóvenes tendrán una mayor ganancia de peso que los animales longevos y por otro lado la genética, ya que indistintamente los bovinos destinados a carne obtendrán más peso que los destinados a la producción de leche.

En cuanto al nivel de utilización, no se encontró diferencia significativa (p>0,05) entre los diferentes niveles de utilización de CP; sin embargo, se observó que las vaquillas que consumieron balanceado con 20% de CP obtuvieron mayor peso promedio durante el experimento con una media final de 310,18 Kg (±2,10) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Peso semanal en función del nivel de inclusión de CP en la dieta (Kg)

Semana	Nivel de CP			p-valor
	0	10	20	
1	282,46 (±2,33)	281,44 (±2,32)	283,93 (±2,32)	0,7547
2	286,26 (±2,25)	286,73 (±2,25)	288,76 (±2,25)	0,7145
3	292,04 (±2,70)	294,23 (±2,70)	297,23 (±2,70)	0,4238
4	296,85 (±2,61)	298,19 (±2,61)	301,04 (±2,60)	0,5305
5	301,15 (±2,75)	302,14 (±2,74)	304,88 (±2,74)	0,6230
6	303,74 (±2,84)	304,99 (±2,83)	306,68 (±2,83)	0,7685
7	306,30 (±2,39)	306,79 (±2,39)	309,41 (±2,39)	0,6280
8	308,50 (±2,11)	308,16 (±2,10)	310,18 (±2,10)	0,7738

p-valor = Valor de probabilidad

Parra *et al*. (2007), en un experimento de inclusión de tres niveles de porquinaza (0%, 25% y 50%) en corderos Hamshire en la etapa de acabado, no encontró diferencia significativa (p>0,05), no obstante, el tratamiento con la inclusión de 25% de porquiza en la dieta, fue en el que obtuvo la mayor ganancia diaria de peso con 203,5 g/día.

Campabadal (1994) citado por Ramírez (2015), manifiesta que al comparar porquinaza seca y fresca, concluye que en la alimentación del ganado de carne con un 60% de porquinaza en la dieta combinada con otros subproductos industriales pueden oscilar las ganancias de peso entre 0,5 y 0,9Kg/día, según la genética del animal, lo que concuerda con el efecto observado en este experimento por lo que se asume que el valor biológico en la proteína de la porquinaza permitió una mayor ganancia de peso en los animales < de 25 meses de edad que consumieron una mayor cantidad de CP.

Según González *et al*. (2010) y García (2000) citado por Ramírez (2015), indican que al analizar en pruebas micotóxicas, la toxicidad de la porquinaza deshidratada resulta tres veces menos tóxica que la pollinaza, reduce la emisión de olores y la presencia de *Salmonella typhimurium* hasta en 99,98%. La cerdaza con frecuencia contiene altas concentraciones de Cu y Zn comparado con estiércoles de otras especies, debido a que el Cu se adiciona a las raciones, con el fin de aumentar la ganancia de peso y la conversión alimenticia; asimismo el Zn se utiliza para contrarrestar el potencial de toxicidad de Cu (García, 2000 citado por Ávalos, 2014).

En el cuadro 5, se observó que no existen diferencias significativas (p>0,05) entre las interacciones para la variable peso; Sin embargo, los animales menores de 25 meses de edad suplementados con 20% de CP obtuvieron los mayores pesos promedio con 313,44Kg (±3,13) al finalizar el experimento e incluso sobre los animales mayores a 25 meses de edad, lo que refleja la capacidad del desarrollo compensatorio aprovechado con la dieta.

Cuadro 5. Peso semanal en función de la interacción de la edad y el nivel de inclusión en la dieta (Kg)

Sem.	Edad	Nivel de CP			p-valor
		0	10	20	
1	< 25	282,89 (±4,12)	279,22 (±3,49)	286,95 (±3,45)	0,3184
	> 25	282,03 (±4,03)	283,67 (±3,42)	280,92 (±3,59)	
2	< 25	286,20 (±3,99)	284,39 (±3,38)	290,34 (±3,35)	0,4908
	> 25	286,33 (±3,90)	289,07 (±3,31)	287,19 (±3,48)	
3	< 25	297,80 (±4,79)	294,79 (±4,06)	299,73 (±4,01)	0,4723
	> 25	286,28 (±4,69)	293,66 (±3,98)	294,74 (±4,18)	
4	< 25	300,67 (±4,63)	296,58 (±3,92)	303,39 (±3,88)	0,3837
	> 25	293,02 (±4,53)	299,80 (±3,84)	298,70 (±4,03)	
5	< 25	303,24 (±4,87)	298,21 (±4,12)	306,91 (±4,08)	0,2657
	> 25	299,05 (±4,76)	306,06 (±4,04)	302,85 (±4,24)	
6	< 25	304,96 (±5,03)	301,73 (±4,27)	310,41 (±4,22)	0,2568
	> 25	302,53 (±4,92)	308,25 (±4,18)	302,96 (±4,39)	
7	< 25	305,54 (±4,24)	304,70 (±3,59)	312,75 (±3,55)	0,2864
	> 25	307,07 (±4,15)	308,87 (±3,52)	306,06 (±3,70)	
8	< 25	308,03 (±3,73)	306,77 (±3,16)	313,44 (±3,13)	0,2941
	> 25	308,96 (±3,65)	309,55 (±3,10)	306,91 (±3,25)	

p-valor = Valor de probabilidad

Efecto de la inclusión de CP sobre la conversión alimenticia

Al analizar la conversión alimenticia (CA) del balanceado sobre el efecto de la edad de los animales, no se encontró diferencia significativa (p>0,05) entre los grupos etarios los mismos que se encontraron valores de 3,36 (±0,22) y 3,47 (±0,22) para los animales menores de 25 meses y mayores que estos últimos en su orden. De la misma forma al analizar el nivel inclusión de CP en la dieta, no se encontró diferencia significativa (p>0,05), se halló que al nivel de 20% de CP, la CA fue de 3,26 (±0,27) siendo la más baja, seguido de la dieta sin CP con 3,45 (±0,27) y con el nivel de 10% de CP se obtuvo un valor más alto de CA con 3,53 (±0,27); en la interacción entre la edad y el nivel de CP, no se detectó diferencia significativa (p>0,05) entre la interacción de estos factores, las vaquillas menores a 25 meses de edad y que consumieron 20% de CP, mostraron el menor promedio de CA con 2,84(±0,39).

Sánchez (2015) describe que animales jóvenes tienen una mejor conversión alimenticia que los animales longevos, ya que los animales realimentados depositan tejidos de un contenido calórico menor (poca grasa y mucho músculo), por lo que se considera que esto sería un factor importante en la determinación de una eficiencia mayor durante ese período, ya que la proteína tiene un valor calórico menor que el de la grasa y se supone que la compensación es debida a crecimiento muscular. Heredia (2012) concluye que el suministro de porquinaza en terneros de levante influye en la conversión alimenticia, permitiendo utilizar el valor biológico de la proteína de la cerdaza.

Análisis económico

Se obtuvo un mayor ingreso en animales menores a 25 meses de edad con inclusión de compost del 20% los que por cada dólar invertido lograron un beneficio de 0,91 dólares americanos (USD), en tanto que al 0% de porquinaza alcanzaron 0,33 USD; al contrario, los animales que recibieron el 10% lograron la menor ganancia ($0,15 USD). En los animales mayores a 25 meses con inclusión de 10% de porquinaza obtuvo una ganancia de 0,45 USD; seguido el 20% con 0,30 USD y por último 0% con 0,09 USD por cada dólar invertido.

Morales *et al.* (2002) citados por Ramírez (2015), indican que tanto la pollinaza como la porquinaza, son insumos que abaratan los costos y eleva la ganancia de peso en vaquillas mestizas, esto se podría atribuir al factor biológico, que podría ser la razón por la cual ciertas vaquillas no presentaron un peso semanal con mucha variabilidad.

CONCLUSIONES

El efecto de la inclusión el compost proveniente de la cama profunda de hato porcino en la alimentación de vaquillas mestizas de doble propósito, no se encontraron diferencias significativas (P>0,05) en cada factor y en la interacción de estos; se destacó la ganancia de peso e índice de conversión alimenticia con la inclusión del nivel correspondiente al 20% en animales menores a 25 meses de edad; también el nivel de inclusión del 20% de CP resultó ser la interacción que mayor beneficio económico rindió con 0,91 USD por dólar invertido.

Al incluir niveles de suplementación de porquinaza en el la alimentación de vaquillas, no se observó rechazo del alimento por lo que un buen proceso de secado y compostaje permite que sea palatable al ser suministrado con otras materias primas especialmente melaza.

LITERATURA CITADA

Ávalos, A. 2014. Evaluación de tres formas para la fermentación de cerdaza. (En línea). Zamorano, GT. Consultado, 18 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible: http://www.repositorio.usac.edu.gt/1574/

Campabadal, C. 1994. Utilización de la porquinaza en la alimentación del ganado de carne. Una alternativa para evitar la contaminación ambiental. San José, CR. Nutrición Animal Tropical. 3 (1): 73-96.

Castrillón, O. Jiménez, R. Bedoya, O. 2004. Porquinaza En La Alimentación Animal. CO. Revista Lasallista de Investigación. 1 (1): 72-76.

Cerdas, R. 2013. Formulación de raciones para carne y leche. Desarrollo de un módulo práctico para técnicos y estudiantes de ganadería de Guanacaste, Costa Rica. Guanacaste, CR. Revista de las Sedes Regionales. 14 (29): 128-153.

Crocker, A. Robinson, O. 2002. Ganetic and nutritional effects on swine excreta. Journal of Animal Science. 80 (11): 2809 – 2816.

Donker, J. 1989. Improve energy prediction equations for dairy cattle rations. J. Dairy Sci. 72: 2942-2948.

INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias). 2006, Manual de producción de leche para pequeños y medianos productores, Boletín INIA N° 148, http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR33823.pdf

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2018. Producción Animal. Papel la FAO en la producción animal. (En línea). Consultado, 18 de oct. 2017. Disponible: http://www.fao.org/animal-production/es/

Heredia, M. 2012. Utilización de porquinaza en dietas de levante para terneros pos destete. (En línea). Zamorano, HN. Consultado, 18 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible: https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1256/1 /T3298.pdf

Jacobs, B. Patience, J. Dozier, W. Stalder, Kerr, B. 2011. Effects of drying methods on nitrogen and energy concentrations in pig feces and urine, and poultry excreta. Journal of Animal Science. 89 (8): 2624 – 2630.

Leytem, A., and Thacker, P. 2010. Phosphorus utilization and characterization of excreta from swine fed diets containing a variety of cereal grains balanced for total phosphorus. Journal of Animal Science. 88: 1860-1867.

Ninabanda, J. 2012. Alternativas de manejo de las excretas porcinas. (En línea). Riobamba, EC. Consultado, 18 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible: http:// http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/2109

NRC (National Research Council). 2001. Nutrients requirements of dairy cattle. (Séptima edición). National Academy Press, USDA, Washington, DC.

Padilla, E., Castellanos, A., Cantón, J., Moguel, Y. 2000. Impacto del uso de niveles elevados de excretas animales en la alimentación de ovinos. Merida, MX. Livestock Research for Rural Development. 12 (1).

Parra, C. Martínez, J. Rincón, J. 2007. Utilización de porquinaza en dos niveles de inclusión, como suplemento alimenticio en la etapa de finalización en el período de engorde en ovinos. (En línea). Consultado, 18 de feb. 2019. Formato PDF. Disponible: https:// https://repository.unad.edu.co/handle/10596/1451

Ramírez, M. 2015. Evaluación económica del engorde de toretes alimentados con porquinaza; pollinaza y concentrado comercial. (En línea). Cuenca, EC. Consultado, 18 de feb. 2019. Formato PDF. Disponible: https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/677

Romero, T. 2016. Evaluación del incremento de peso en bovinos mestizos con pollinaza y porquinaza como suplementación alimenticia en el cantón Marcabeli. (En línea). Machala, EC. Consultado, 18 de feb. 2019. Formato PDF. Disponible: http:// http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/7693

Saintilan, R., Mérour, I., Brossard, L., Tribout, T., Dourmad, J., Sellier, P., Bidanel, J., Van Milgen, J., Gilbert, H. 2013. Genetics of residual feed intake in growing pigs: Relationships with production traits, and nitrogen and phosphorus excretion traits. Journal of Animal Science. 91: 2542-2554.

Weiss, W. 1993. Predicting energy values of feeds. J. Dairy Sci. 76: 1802-1811.

Yukun, S., Pengju, H., Yujie, W., Ziqi, C., Yang, J., Baisheng, D., Runze, L., Yonggen, Z. 2019. Automatic monitoring system for individual dairy cows based on a deep learning frameworks that provides identification via body parts and estimation of body condition score. J. Dairy Sci. 102 (11): 10140-10151.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

INOCULACIÓN DE *Lactobacillus plantarum* PARA LA FERMENTACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL ENSILAJE DE MAÍZ

INOCULATION OF *Lactobacillus plantarum* FOR FERMENTATION AND CONSERVATION OF CORN SILAGE

Ernesto Antonio Hurtado, Fátima Arteaga-Chávez, Boris Andrés Zambrano-Zambrano y Arturo José Vera-Mendoza

Carrera de Medicina Veterinaria. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Calceta, Manabí-Ecuador

Email: ernesto.hurtado@espam.edu.ec

Información del artículo

Tipo de artículo: Artículo original

Recibido: 07/02/2020

Aceptado: 18/12/2020

Licencia: CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA 11(2):108-114

https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.237

Resumen

Con el fin de evaluar el efecto de la inoculación de *L. plantarum* en la fermentación, conservación y calidad del ensilaje de maíz (*Zea mays*), se realizó el ensilaje de 32 bolsas con forraje a diferentes dosis de inoculado de *L. plantarum* (0, 5, 10, 15 ml) y tiempo de muestreo (15, 30, 45 días), en un diseño completamente al azar. Se estudió el pH, temperatura y unidades formadoras de colonias (UFC). Además de las características bromatológicas. El tiempo de muestreo resultó ser significativo (p<0,01) para el pH, siendo a los 30 días el de menor valor promedio (3,65). Se observó una temperatura mayor (27ºC) a los 15 días de muestreo (p<0,01). La aplicación de *L. plantarum* en los componentes bromatológicos no incidió estadísticamente a excepción de la materia seca donde T3 a los 15 días presentó mayor promedio (23,65%). Además, los promedios máximos fueron para proteína cruda (10,71%) en T2 a los 30 días; estrato etéreo (2,36%) en T1 a los 45 días; fibra cruda (37,30%) en T3 a los 45 días; ceniza (9,28%) en T2 a los 30 días y energía digestible (2,41 Mcal/Kg) en T2 a los 15 días. Se concluye que la inoculación microbiana permite acelerar el proceso de conservación del forraje.

Palabras clave: Bacterias, pH, temperatura, sensoriales, bromatológicos, unidades formadoras de colonia.

Abstract

In order to evaluate the effect of *L. plantarum* inoculation on the fermentation, conservation and quality of corn silage (*Zea mays*), 32 bags with forage were used to produce silage at different doses of *L. plantarum* inoculation (0, 5, 10, 15 ml) and sampling times (15, 30, 45 days), in a completely randomized design. The pH, temperature and colony forming units (CFU) were studied. In addition to the bromatological characteristics, the sampling time was significant (p<0.01) for the pH, with the lowest average value (3.65) at 30 days. A higher temperature (27oC) was observed after 15 days of sampling (p<0.01). The application of *L. plantarum* in the bromatological components did not have a statistical impact except for the dry matter where T3 at 15 days presented the highest average (23.65%). Besides, the maximum average values were for raw protein (10.71%) in T2 at 30 days; ethereal stratum (2.36%) in T1 at 45 days; raw fiber (37.30%) in T3 at 45 days; ash (9.28%) in T2 at 30 days and digestible energy (2.41 Mcal/Kg) in T2 at 15 days. It is concluded that microbial inoculation makes it possible to accelerate the forage conservation process.

Keywords: Bacteria, pH, temperature, sensory, bromatological, colony forming

INTRODUCCIÓN

En la provincia de Manabí la principal actividad económica es la agricultura, debido a que es líder por poseer mayor superficie de labor agrícola con 1,2 millones de hectáreas, las cuales representan el 15,83% a nivel nacional, es así como esta actividad es considerada el pilar fundamental para el desarrollo de la economía manabita. El sector agrícola se encuentra especializado en diversos productos, entre ellos uno de los que destaca es el maíz dulce seco, cercano al 25% total de la producción nacional (Mendoza *et al*., 2019).

A pesar de la extensa superficie dedicada a la explotación agropecuaria, la región se ve afectada por situaciones climáticas, que dificultan que esa condición natural se convierta en mayor productividad para la zona, principalmente en el ámbito de la alimentación animal para mantener los suministros de alimento durante todo el año, específicamente en los bovinos. Saavedra *et al*. (2020) mencionan que, entre las alternativas de suplementación animal, se encuentra la elaboración de ensilajes como proceso de conservación de forrajes para mitigar la escasez de alimento y aumentar el aporte energético-proteico.

La mayoría de los productores, en especial los de pequeña dimensión que cuentan con escasa disponibilidad de base territorial y nulos recursos económicos, no pueden desarrollar su actividad ganadera de forma óptima, lo que se traduce en una baja productividad en la explotación, por cuanto se hace necesario abordar esta actividad bajo un enfoque multidimensional con vistas a mejorar la calidad y disponibilidad de los subproductos agroindustriales disponibles. Así, estas materias primas pueden someterse a distintos procesos físicos, químicos, biológicos o de adición de cultivos microbianos y enzimas fibrolíticas exógenas que permitan incrementar sus valores nutritivos y digestibilidad (Cabezas *et al*., 2020).

Rangel *et al*. (2017) indican que, la transformación de subproductos de maíz mediante técnicas de ensilado no solo mejora la digestibilidad, sino que además incrementa la durabilidad de estos recursos para su utilización en épocas de escasez de alimentos, así como también la autosuficiencia de los productores de pequeña escala. Además, contribuye a la mitigación del cambio climático disminuyendo las emisiones de rumiantes, según Rivas *et al*. (2019).

En este sentido, Saavedra *et al*. (2020) mencionan que los procesos de fermentación, permiten que microorganismos eficientes usen los sustratos como fuente de alimento para su multiplicación y la realización de diferentes procesos metabólicos que se generan mediante el consumo de minerales, lípidos y nitrógeno en un medio favorable permitiendo el incremento en el valor de proteína cruda obtenidos a partir del trabajo realizado por microorganismos principalmente bacterias ácido lácticas.

Rodríguez *et al*. (2019) resaltan que la producción de alimentos alternativos bajo el proceso de fermentación permite un producto inocuo, ya que el proceso accede la eliminación de bacterias patógenas como E. *coli*, salmonella entre otras.

Las referencias citadas anteriormente permiten inferir, que la inoculación de bacterias (*Lactobacillus plantarum*) al material vegetativo del maíz ensilado, coadyuvará al proceso fermentativo (anaeróbico), acidificación del medio para contrarrestar la proliferación de microorganismos patógenos y al mismo tiempo una reducción en el tiempo para el uso en la alimentación animal.

Además, es importante resaltar los cambios que se producen en el material vegetativo inoculado tales como pH, temperatura, calidad (aspectos sensoriales) y tiempo de uso. Todo lo anterior permite mencionar que la finalidad de la presente investigación está en la búsqueda de alternativas que logren la obtención de un ensilaje de calidad y de uso en corto tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

La presente investigación se realizó en la unidad de docencia, investigación y vinculación pastos y forraje de la ESPAM MFL, en el sitio El Limón, parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí.

Manejo del experimento

Características de la cepa de *L. Plantarum*

La cepa utilizada dentro de esta investigación fue *Lactobacillus plantarum* 24LT aislada del intestino del ternero con característica de catalasa negativa y tinción de Gram +, como consta en los registros del laboratorio de Biología Molecular de la carrera de Medicina Veterinaria, conservada a -20ºC en tubos Eppendorf más glicerol al 20%; el cual contiene crioprotectores evitando que se formen cristales que destruyen la cepa y manteniendo la misma en una temperatura óptima.

Preparación de inoculo de *L. Plantarum*

A partir del crecimiento de la cepa bacteriana de *L. plantarum* en caldo MRS se procedió a la multiplicación de la cepa bacteriana mediante la inoculación de 100 ul de *L. plantarum* por cada 100 ml de caldo MRS.

Posteriormente se ubicó en incubación a 37ºC durante 18 horas en condiciones de anaerobiosis.

Elaboración del ensilaje de maíz

Se procedió a la cosecha del material vegetativo fresco (planta con mazorca) de manera manual, la variedad Trueno, con edad de cosecha de 72 días, en el sitio La Piñuela a 3 km de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, el picado fue realizado por medio de la cortadora de pasto acoplada al tractor, mientras que el llenado de los microsilos consistió que por cada capa de forraje de 3 cm la aplicación en partes de la dosis correspondiente a concentraciones de $4x10^8$ UFC /ml del inoculante bacteriano con la cepa *L. plantarum,* acompañada de la compactación obteniendo uniformidad dentro del silo para conseguir una condición anaerobia dentro de la masa forrajera, finalmente se realizó el sellado manual de las bolsas (10 kg de forraje de maíz).

Recolección de muestras de ensilaje de maíz

La recolección de muestras se inició mediante la apertura de los microsilos de los respectivos tratamientos, con la extracción de cuatro muestras de 1,5 kg de forraje en bolsas zipploc. Posteriormente se retiró manualmente el aire excedente, teniendo al forraje bajo condición anaerobia; de allí se trasladó al laboratorio de Biología Molecular dentro de la carrera de Medicina Veterinaria y el laboratorio Química de alimentos en la carrera de Agroindustria, adscritos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí (ESPAM MFL).

Evaluación del pH en el ensilaje de maíz

La evaluación consistió en una muestra forrajera de 10 g sumergida en 20 ml de agua destilada, que fue colocada en una mesa gravitatoria con imán durante 30 minutos en vasos de precipitación; seguidamente se determinaron los valores respectivos mediante el uso del potenciómetro.

Determinación de unidades formadoras de colonia (UFC) del ensilaje de maíz

Para el pesaje de los 10 gramos de la muestra de ensilaje se utilizó una balanza gramera marca Kern, posteriormente se depositó en 90 ml de agua de peptona en un matraz de Erlenmeyer, esperando su crecimiento en un lapso de 24 horas, consecuentemente se realizaron diluciones con micropipeta de 1000 ul sucesivas hasta 10^{-9}. A partir de las diluciones 10^{-6} hasta 10^{-9} se realizó la siembra por diseminación en placas Petri (0,1 ml), las mismas que contenían agar MRS V8 (Himedia) específico para *Lactobacillus*; después se dejó en incubación entre 24 y 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a contar las UFC con el equipo contador de colonias.

Análisis bromatológico del ensilaje de maíz

Las muestras para el análisis bromatológico fueron enviadas al laboratorio de servicio de análisis e investigación en alimentos perteneciente al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicado en el sitio Cutuglagua, en el cantón Mejía, provincia de Pichincha, para la determinación de: materia seca, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas, energía digerible.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se aplicó un análisis paramétrico utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro niveles, siendo los siguientes: T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml) con ocho repeticiones; en distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).

Las variables en estudio (pH, temperatura, composición bromatológica y UFC) se analizaron a través de un análisis de varianza teniendo como factores fijos los tratamientos. Previamente se comprobaron los supuestos de homogeneidad de varianza (Prueba de Bartlett) y normalidad de los errores (Prueba de Shapiro–Wilk). Además, se realizó comparaciones de media utilizando la técnica de la mínima diferencia significativa al 5%, en las variables que resultaron significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

pH y temperatura del ensilaje de maíz

En el cuadro 1, se presentan los promedios y errores estándar para el pH y la temperatura del ensilaje de maíz a distintos tiempos de muestreo. Se observa que estos resultados se encuentran entre los promedios reportados por la literatura.

pH

Las diferencias obtenidas para los tratamientos con respecto a los días de muestreo resultaron diferentes, siendo a los 15 y 30 días la mayor significancia ($p<0,01$), mientras que para los 45 días de muestreo la confiabilidad resultó ser del 95%. Es relevante considerar que todos los tratamientos produjeron valores de pH por debajo de 4,5 para una óptima conservación del forraje resultados que según Abdul *et al*. (2017) son aceptables.

Al considerar el tiempo de muestreo de manera específica, se observó que a los 30 días el pH disminuyó en comparación con los resultados obtenidos a los 15

días, esto se debe posiblemente a la producción de ácido láctico por parte de microorganismos homofermentadores como *Lactobacillus plantarum* (Filya, 2003a y Addah *et al*., 2016) aspecto que refleja un adecuado proceso de ensilado (Jaimes *et al*., 2009). Resultados similares son reportados por la literatura (Filya, 2003b; Jalč *et al*., 2009; Corral-Luna *et al*., 2011; Addah *et al*., 2011; Addah *et al*., 2016; Joo *et al*., 2018).

Igualmente destaca que el pH del ensilaje sin inocular (T0) no varió en los distintos tiempos de muestreo. Mientras que los tratamientos 5 ml (T1) y 15 ml (T3) que se inocularon con *L. plantarum* presentaron el pH más bajo al finalizar el proceso de ensilaje, debido posiblemente a la actividad de *L. plantarum* en la acidificación del medio, estos resultados son similares con los obtenidos por Kung y Ranjit (2001).

Este efecto del pH permite inferir que, a pesar de la variabilidad observada, esta no excede los niveles máximos y mínimos para el proceso de ensilaje, y de esta manera se obtiene un material vegetativo que reúne las condiciones nutritivas adecuadas para la alimentación animal.

Temperatura

Se observa diferencias altamente significativas (p<0,01) en la temperatura del ensilado en los distintos tiempos de muestreo, resalta la disminución de la temperatura a los 30 días con respecto a los 15 días. La menor temperatura se observó a los 30 días para el tratamiento 3 (15 ml *L. plantarum*), posteriormente se incrementó a los 45 días para el ensilaje que incluía el microrganismo, estos hallazgos permitió deducir el efecto significativo de esta variable en el ensilaje de maíz, lo que corrobora lo reportado por Mier (2009).

Los valores obtenidos se pueden relacionar con los reportes presentados por Kung y Ranjit (2001) y Villa *et al*. (2010) quienes demuestran que el crecimiento de las bacterias homofermetadoras, productoras de ácido láctico y la calidad del ensilaje, principalmente depende del grado de ensilabilidad del forraje, concentración de azúcares, capacidad buffer, humedad y temperatura.

Cuadro 1. Promedios y errores estándar del pH y temperatura del ensilaje de maíz inoculado con *L. plantarum* en distintos tiempos de muestreo.

Tratamientos	Tiempos de muestreo					
	15		30		45	
	pH	Temperatura (ºC)	pH	Temperatura (ºC)	pH	Temperatura (ºC)
T0	3,93^{b}± 0,01	25,38^{c} ± 0,19	3,93^{a}± 0,02	25,80^{a} ± 0,10	3,95^{a} ± 0,01	25,78^{a} ± 0,09
T1	3,92^{b} ± 0,01	26,11^{bc} ± 0,19	3,71^{bc} ± 0,02	22,62^{b} ± 0,10	3,91^{b} ± 0,01	24,97^{b}± 0,09
T2	4,02^{a} ± 0,01	27,21^{a} ± 0,19	3,65^{c}± 0,02	22,42^{bc} ± 0,10	3,94^{ab} ± 0,01	25,17^{b}± 0,09
T3	3,94^{b}± 0,01	26,27^{b} ± 0,19	3,78^{b}± 0,02	22,23^{c}± 0,10	3,90^{b}± 0,01	24,46^{c} ± 0,09

T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml).
[a, b, c] Letras distintas a nivel de columnas difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

Composición bromatológica del ensilaje de maíz en distintos tiempos de muestreo

La composición bromatológica del material experimental, en los distintos tiempos de muestreo de los tratamientos con y sin inclusión de *L. plantarum* para la composición bromatológica (Cuadro 2), resultó que los valores obtenidos se encuentran en los promedios generales reportados por la literatura para maíz ensilado**.** Se destaca la poca variabilidad que sufrieron los componentes bromatológicos del forraje conservado dentro de los tratamientos.

Es importante mencionar que ninguno de estos componentes fue afectado estadísticamente (p>0,05) por los distintos tratamientos a excepción de la materia seca.

Lo anterior permite precisar, que los datos obtenidos de materia seca (%) a los 30 días son similares a los reportados por Filya (2003a) y Ferreira *et al*. (2007), resultados que, son inferiores en relación con los presentados por Freitas *et al*. (2006); Corral-Luna *et al*. (2011); Silveira y Santos, (2017) y Abdul *et al*. (2017) quienes obtuvieron porcentaje de 28,6; 37,8; 29,61 y 26,95 respectivamente.

Con respecto a la proteína cruda, se observa que los valores (%) fueron superiores cuando se incorporó el *L. plantarum* en comparación con el tratamiento sin inclusión, siendo la excepción a los 45 días (8,87). Mientras que las investigaciones realizadas por Freitas *et al*. (2006), Abdul *et al*. (2017) y, Silveira y Santos (2017) reportan porcentajes de PC en ensilajes de maíz inferiores al 8%**.**

El componente extracto etéreo (%) presentó el menor valor a los 15 días en comparación con los demás tiempos y con la dosis, los resultados obtenidos son inferiores a los reportados por Apráez-Guerrero *et al*. (2012) quienes obtuvieron valores superiores al 2%.

La variabilidad observada en los valores de fibra cruda (FC) no fue significativa; sin embargo, el mayor promedio se obtuvo a los 45 días con aplicación del inóculo en dosis de 15 ml de *L. plantarum*. Los resultados son similares a los obtenidos por Apráez-Guerrero *et al*. (2012) quienes evaluaron un ensilaje a base de avena y con la mezcla de avena más chilca. Además, a los reportados por Silveira y Santos (2017), en ensilaje de caña de azúcar más la adición de un inoculante.

Al analizar los valores obtenidos en el componente ceniza, se observa a los 30 días de evaluación el valor más alto (9,28%) cuando se incluyó la dosis de 10 ml (T2). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Apráez-Guerrero *et al*. (2012) en ensilajes de avena más acacia y por Corral-Luna *et al*. (2011). Sin embargo, son inferiores con los reportados por Villa *et al*. (2010) quienes obtuvieron 7,09% en ensilajes de maíz y su evaluación microbiológica y calidad nutricional. Es importante destacar, que la ceniza en ensilajes es una característica deseable dentro de un alimento, debido al aporte de minerales que incorpora a la dieta.

Con respecto a la energía digestible (ED), se observa el mayor promedio (2,41 Mcal) a los 15 días, cuando el ensilaje de maíz fue inoculado con 10 ml de *L. plantarum*; estos resultados permiten inferir un estado de ensilabilidad óptimo con respecto al resto de los tiempos. Los datos obtenidos son inferiores a los reportados por Hazard *et al.* (2001), cuando ensiló maíz en combinación con trébol (*Trifolium* sp). Mientras que los obtenidos por López (2017), cuando evaluaron ensilajes de pasto Camerún (*Pennisetum purpureum*) con inclusión de melaza, la energía digestible fue de 2,48 Mcal, resultados muy similares a los obtenidos en la presente investigación.

Un hecho relevante en las investigaciones son los hallazgos obtenidos por Roblero (2006) quien reportó valores superiores en la energía digestible en de cuatro tipos de variedades de ensilaje de maíz; forrajero, comercial, AN388, AN44, quien reportó valores de 3,20; 3,18; 3,17 y 3,17 Mcal respectivamente, siendo estas superiores al máximo obtenido de 2,41 Mcal.

Estos resultados permiten deducir que los tratamientos con inóculos bacterianos minimizan las pérdidas de calidad del forraje favoreciendo su conservación, permitiendo a pequeños ganaderos una herramienta en época crítica, por la disponibilidad de forrajes de calidad, material con niveles de proteína adecuado; lo que hace al ensilaje con características deseables.

Cuadro 2. Composición bromatológica del ensilaje de maíz con distintos niveles de inclusión de *L. plantarum* a distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).

Trat.	Tiempos de muestreo																	
	15						30						45					
	MS	PC	EE	FC	C	ED	MS	PC	EE	FC	C	ED	MS	PC	EE	FC	C	ED
TO	21,35[b]	8,68	1,44	36,82	9,69	2,18	21,94[b]	9,68	1,86	37,28	9,19	2,22	19,72[b]	9,56	1,96	35,23	8,86	2,28
T1	23,07[ab]	9,00	1,48	34,26	8,65	2,28	22,15[a]	10,16	1,52	34,61	8,66	2,28	21,44[b]	9,92	2,36	34,55	8,49	2,43
T2	22,43[ab]	8,77	1,47	34,79	4,99	2,41	22,9[a]	10,71	1,84	33,73	9,26	2,30	23,14[a]	10,13	1,91	34,03	9,11	2,30
T3	23,65[a]	9,23	1,41	36,26	9,06	2,22	23,12[a]	9,87	1,82	34,67	8,82	2,29	23,28[a]	8,87	1,60	37,30	8,17	2,23
CV(%)	5,31						7,76						11,08					

T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml); *M.S: materia seca; P.C: proteína cruda; E.E: extracto etéreo; F.C: fibra cruda; C: ceniza; E.D: energía digerible.

Microorganismos en el ensilaje de maíz a distintos tiempos de muestreo

El resumen descriptivo (Cuadro 3) permite precisar un incremento a medida que transcurren los tiempos de muestreo, admitiendo la estabilidad aeróbica y con esto la conservación del material vegetativo.

Cuadro 3. Estadística descriptiva del número de microorganismos totales (UFC) en niveles de inclusión de *L. plantarum* a distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).

Estadígrafos	Tiempos de muestreo											
	15				30				45			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Media	1,25	1,60	1,60	1,60	3,47	5,36	5,36	5,36	4,28	6,36	6,36	6,36
DE	1,33	1,33	1,33	1,33	6,56	6,56	6,56	6,56	0,48	0,48	0,48	0,48
EE	3,56	3,56	3,56	3,56	1,88	1,88	1,88	1,88	2,61	2,61	2,61	2,61

Es importante resaltar que a mayor tiempo de muestreo se observa un incremento en los promedios de *L. plantarum*, que indica la actividad fermentativa. Steidlová *y Kalač* (2003) mencionan que estos microorganismos son homofermentadores, lo que hace que sean considerados benéficos.

Con respecto a esto último, Vázquez *et al*. (2008) resaltan, que al evaluar las bacterias ácido láctica (BAL) como inóculo en conservación de forrajes, estas son responsables de la producción de sustancias antimicrobianas, las cuales inhiben el crecimiento de organismos patógenos o esporádicos. Además, el efecto benéfico de la inoculación de *L. plantarum* en ensilados dentro de cada uno de los tratamientos favorece la disminución del pH sumado al aumento de concentraciones de ácido láctico, todo esto se debe posiblemente a las predominancias de bacterias productoras de ácido láctico, permitiendo así la estabilidad de las propiedades nutricionales del forraje.

De otra parte, es relevante indicar que las técnicas de conservación muchas veces no suelen ser suficientes, afectando su conservación; es allí donde el uso de aditivos podría contribuir a minimizar las pérdidas de calidad, siendo el empleo de inoculantes una alternativa para mantener un valor nutritivo óptimo.

CONCLUSIONES

La inclusión de *L. plantarum* en el ensilaje de maíz resultó con pH y temperatura para el proceso de fermentación, que coadyuvan la conservación del cultivo, a los 30 días de muestreo (T2), siendo una alternativa en la alimentación animal, principalmente en la época seca. Además, no influyó en la composición bromatológica, a excepción del componente materia seca.

LITERATURA CITADA

Abdul, N., Abd, M. R., Mahawi, N., Hasnudin, H., Al-Obaidi, J. R., & Abdullah, N. 2017. Determination of the Use of *Lactobacillus plantarum* and Propionibacterium freudenreichii Application on Fermentation Profile and Chemical Composition of Corn Silage. BioMed Research International, 1-8. https://doi.org/10.1155/2017/2038062

Addah, W., Baah, J., & McAllister, T. A. 2016. Effects of an exogenous enzyme-containing inoculant on fermentation characteristics of barley silage and on growth performance of feedlot steers. Canadian Journal of Animal Science, 96(1):1-10.

Addah, W., Baah, J., Groenewegen, P., Okine, E. K., & McAllister, T. A. 2011. Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. Canadian Journal of Animal Science, 91(1):133-146.

Apráez-Guerrero, J. E., Insuasty-Santacrúz, E. G., Portilla-Melo, J. E., & Hernández-Vallejo, W. A. 2012. Composición nutritiva y aceptabilidad del ensilaje de avena forrajera (Avena sativa), enriquecido con arbustivas: acacia (Acacia decurrens), chilca (Braccharis latifolia) y sauco (Sambucus nigra) en ovinos. vet.zootec., 6(1):25-35.

Cabezas, A. S., Perea, J., Montenegro, L., Espinoza, I., Avellaneda-Barbarito, J. F., y Barba, C. 2020. Cinética de degradación ruminal in situ de ensilado de rastrojo de maíz (*Zea mays*) con niveles crecientes de urea. Archivos de zootecnia, 69(267), 320-326.

Corral-Luna, A. C., Domínguez-Díaz, D., Rodríguez-Almeida, F., Villalobos-Villalobos, G., Ortega-Gutiérrez, J., & Muro-Reyes, A. 2011. Composición química y cinética de degradabilidad de ensilaje de maíz convencional y sorgo de nervadura café. Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences, 6(1):181- 187.

Ferreira, D. A., Gonçalves, L. C., Molina, L. R., Castro Neto, A. G., & Tomich, T. R. 2007. Características de fermentação da silagem de cana-de-açúcar tratada com uréia, zeólita, inoculante bacteriano e inoculante bacteriano/enzimático. Arquivo Brasileiro de

Medicina Veterinária e Zootecnia. 59(2):423-433.

Filya, I. 2003a. The Effect of Lactobacillus buchneri and *Lactobacillus plantarum* on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages. Journal of Dairy Science, 86(11):3575-3581.

Filya, I. 2003b. The effect of Lactobacillus buchneri, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. Journal of Applied Microbiology, 95(5): 1080-1086.

Freitas, A. W. de P., Pereira, J. C., Rocha, F. C., Costa, M. G., Leonel, F. de P., & Ribeiro, M. D. 2006. Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja. Revista Brasileira de Zootecnia, 35(1):38-47.

Hazard, S., Morales, M., Butendieck, P. y Mardones, P. 2001. Evaluación de la mezcla de ensilaje de maíz con ensilaje de trébol rosado en diferentes proporciones en la alimentación invernal de vacas lecheras en la zona sur. Agricultura Técnica, 61(3): 306-318

Jaimes, J. J., Hernández, J., & Vargas, M. 2009. Efecto de tres niveles de carbohidratos sobre la calidad del ensilado. Revista Chapingo Serie Zonas Aridas., 8, 10-17.

Jalč, D., Lauková, A., Simonová, M. P., Váradyová, Z., & Homolka, P. 2009. Bacterial Inoculant Effects on Corn Silage Fermentation and Nutrient Composition. Asian-Australas J Anim Sci, 22(7):977-983.

Joo, Y. H., Kim, D. H., Paradhipta, D. H. V., Lee, H. J., Amanullah, S. M., Kim, S. B., ... Kim, S. C. 2018. Effect of microbial inoculants on fermentation quality and aerobic stability of sweet potato vine silage. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 31(12):1897- 1902.

Kung, L., & Ranjit, N. K. 2001. The effect of Lactobacillus buchneri and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of Dairy Science, 84(5):1149-1155.

López, M. 2017. Características nutricionales y fermentativas de ensilados de pasto Camerún con plátano Pelipita. (En línea). Consultado, 15 de Ene. 2019. Formato PDF. Disponible en https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:UykMkWGm6EsJ:https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6173095.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec

Mendoza, J., García, K., Salazar, R., y Vivanco, I. 2019. La Economía de Manabí (Ecuador) entre las sequías y las inundaciones. Espacios, 40, 16. http://www.revistaespacios.com/a19v40n16/a19v40n16p10.pdf.

Mier, M. 2009. Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/seJdnv

Rangel, J, Espinosa, JA, De Pablos-Heredero, C, Rivas, J, Perea, J, Angón, E, y García, A 2017. ¿Is the increase of scale in the tropics a pathway to smallholders? Dimension and ecological zone effect on the mixed crop-livestock farms', Spanish Journal of Agricultural Research, vol.15, nº 2, pp 1-10.

Rivas, J, Perea, J, De Pablos-Heredero, C, Morantes, M, Angón, E, Barba, C, García, A. 2019. Role of technological innovation in livestock breeding programmes: a case of cereal-sheep system', Italian Journal of Animal Science, vol. 18, nº 1, pp. 1049-1057

Roblero, J. 2006. Evaluación comparación nutricional y energética de cuatro Genotipos de maíz en forma natural y ensilado. (En línea). Consultado, 15 de Ene. 2019. Formato PDF. Disponible en http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5950/T15369%20ROBLERO%20L%D3PEZ,%20JUAN%20JOSE%20%20TESIS.pdf?sequence=1

Rodríguez Molano, C., Fonseca-López, D., Niño Monroy, L. E., Salamanca López, A. E., Hoyos Concha, J. L., Otero Ramírez, I. D., y Torres Lagos, N. 2019. Caracterización nutricional y de producción de biomasa de Sambucus peruviana, Sambucus nigra y Morus alba en un banco forrajero. Ciencia en Desarrollo, 10(2), 23-32. https://doi.org/10.19053/01217488.v10.n2.2019.9098

Saavedra Montañez, G., Borras Sandoval, L. M., y Cala Guerrero, D. 2020. Ensilaje liquido de residuos de durazno (Prunus pérsica) como alternativa en alimentación animal. Ciencia en Desarrollo, 11(1), 33-42. https://doi.org/10.19053/01217488.v11.n1.2020.8960.

Silveira, L. de P., & Santos, T. M. da C. 2017. Silagem de cana-de-açúcar acrescida com aditivos químicos e inoculante bacteriano. Pubvet, 11(5), 519-526. https://doi.org/10.22256/pubvet.v11n5.519-526

Steidlová, Š., & Kalač, P. 2003. The effects of using lactic acid bacteria inoculants in maize silage on the formation of biogenic amines. Archives of Animal

Nutrition, 57(5), 359-368.

Vázquez, J. A., Docasal, S. F., Prieto, M. A., González, M. P., & Murado, M. A. 2008. Growth and metabolic features of lactic acid bacteria in media with hydrolysed fish viscera. An approach to bio-silage of fishing by-products. Bioresource Technology, 99(14), 6246-6257.

Villa, A.F., Meléndez, A.P., Carulla, J.E., Pabón, M.L., Cárdenas, E.A. 2010. Estudio microbiológico y calidad nutricional del ensilaje de maíz en dos ecorregiones de Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 23(1):65-77.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

EVALUACIÓN DE LEVADURAS EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MELAZA DE CAÑA DE AZÚCAR

EVALUATION OF YEAST FOR ETHANOL PRODUCTION FROM SUGAR CANE MOLASSES

Miguel Alejandro Tuárez Párraga[1 3], Mabel Leonela Laz Mero[1 2], Stephany Judith Bermello Ochoa[1 2], Edison Geovanny Díaz Campozano [1 2 4]

[1]Posgrado Agroindustria. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria Manabí. Sitio El limón, Calceta, Manabí – Ecuador
[2]Universidad Técnica de Manabí, Av. Urbina y Ché Guevara. Portoviejo, Manabí – Ecuador
[3]Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Av. Circunvalación, vía San Mateo, Manta, Manabí – Ecuador
[4]Instituto Tecnológico Superior Paulo Emilio Macías. Ubicación: Portoviejo Cdla. San Jorge, Manabí - Ecuador

Email: alejandro_tuarez@hotmail.com

Información del artículo

Tipo de artículo: Nota técnica

Recibido: 14/01/2020

Aceptado: 30/11/2020

Licencia:

CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA 11(2): 115-119

https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.193

Resumen

El objetivo de la investigación consistió en evaluar el efecto de la adición de tres tipos de levaduras comerciales *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis,* utilizando disolución de melaza, las etapas del experimento consistieron en la activación de levadura y fermentación para la producción de etanol mediante una destilación simple; determinando la producción de etanol más óptima del experimento, con diferentes concentraciones de sacarosa (19°Bx, 23°Bx y 27°Bx) y diferentes condiciones ambientales (27°C, 30°C y 33°C). Se aplicó un modelo estadístico de diseño cuadrado latino utilizando el programa Microsoft Excel, tomando como factor de interés tipos de levaduras y factores secundarios los sólidos solubles (°Bx) y temperaturas de almacenamiento (°C). Se formularon nueve tratamientos (T), de los cuales se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) entre los sólidos solubles (°Bx) y ($p>0,05$) para los tipos de levaduras estudiadas y las temperaturas de almacenamiento. Durante la producción de etanol a partir de la disolución de melaza de caña, el mejor tratamiento fue el T8, utilizando levadura *Saccharomyces cerevisiae* a 27°Bx y con temperatura de 30°C.

Palabras clave: etanol, *Saccharomyces cerevisiae*, producción, melaza, fermentación.

Abstract

The objective of the research was to evaluate the effect of the addition of three types of commercial yeast: *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces exiguus* and *Candida utilis*, using molasses solution. The stages of the experiment consisted of yeast activation and fermentation for ethanol production through simple distillation; determining the most optimal ethanol production of the experiment, with different concentrations of sucrose (19°Bx, 23°Bx and 27°Bx) and different environmental conditions (27°C, 30°C and 33°C). A Latin-square design was applied using Microsoft Excel, taking as a factor of interest the types of yeasts and secondary factors the soluble solids (°Bx) and storage temperatures (°C). Nine treatments (T) were formulated, of which significant differences ($p<0.05$) were observed between the soluble solids (°Bx) and ($p>0.05$) for the types of yeast studied and the storage temperatures. During ethanol production from sugar cane molasses solution. The best treatment was T8, using *Saccharomyces cerevisiae* yeast at 27°Bx, with a temperature of 30°C.

Keywords: ethanol, *Saccharomyces cerevisiae*, production, molasses, fermentation.

INTRODUCCIÓN

La mayor producción mundial de caña de azúcar se encuentra concentrada entre los países de Brasil, India y China. En Brasil el 48% de su producción de caña se utiliza para producir etanol y el 52% se utiliza para la producción de azúcar (Chimbo y Vega, 2015).

De acuerdo a lo citado por Elizalde (2015) gracias a la biotecnología en los próximos años la caña de azúcar no solo será un cultivo estratégico para producir exclusivamente azúcar o etanol, sino también plásticos biodegradables, vacunas, entre otros.

Mientras que en Ecuador los cultivos de caña de azúcar son utilizados para obtención de azúcar, melaza, miel, panela y etanol (Chimbo y Vega, 2015). El etanol de caña de azúcar es utilizado al 5 % en la gasolina extra o llamada Ecopaís (Diario El Comercio, 2018). De acuerdo a lo mencionado por Diario El Telégrafo (2019) en el año 2017 el Ecuador registró 79 364 ha cosechadas.

Inicialmente el etanol fue utilizado para la producción de bebidas alcohólicas, vinagres y conservas, pero actualmente tiene aplicaciones farmacéuticas, perfumes y cosméticos, materiales explosivos, seda artificial y materiales plásticos (Brooks, 2008). Sin embargo, por su alto contenido de oxígeno y combustión limpia es considerado un potencial combustible (Angulo, 2010).

Cabe destacar que el etanol se utiliza para el aumento de octanaje de la gasolina o como aditivo de la misma e insumo para la producción de biodiésel (González *et al*., 2017). Mientras que las emisiones de CO_2 se reducen con el uso de biocombustibles a diferencia de los combustibles fósiles, encontrando el equivalente de 1000 tn de caña de azúcar a 16 259 tn de petróleo (Chimbo y Vega, 2015).

Teniendo en cuenta que la producción energética alternativa proveniente de derivados de petróleo, genera biocombustibles mediante el uso de materias primas naturales, dentro de las cuales destaca el bioetanol, con el objetivo de preservar los recursos tanto renovables como no renovables y maximizar su uso (Sánchez *et al*., 2010).

También es evidente que el 70% de la producción mundial de alcohol está liderada por Brasil utilizando la base de caña de azúcar y Estados Unidos a base de maíz, seguidos por países como China, India y Francia, adicionalmente se esta incrementando considerablemente la producción en países como Tailandia, Filipinas, Guatemala, Colombia, República Dominicana, Alemania y España, pero la producción de estos últimos es pequeña en comparación con los países que lideran la producción mundial (Suárez *et al*., 2016).

Para la producción de etanol se emplean diferentes levaduras, tanto con el uso de bagazo de caña de azúcar como sustrato, considerado como una gran opción industrial por disponibilidad de materia prima (Intriago y Sabando, 2017).

Una de las levaduras más utilizadas es la *Saccharomyces sp*., por su eficiencia en convertir azúcares a etanol, además de amplia aceptación en los procesos industriales (Argote *et al*., 2015), concordando con Suárez *et al*. (2016) donde mencionan que la fermentación de azúcares por medio de una levadura generalmente *Saccharomyces cerevisiae* da paso a la producción del etanol.

Por otra parte, la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) es muy reconocida durante la elaboración de pan y cerveza (Nandy y Srivastava, 2018). En la investigación realizada por Shurson (2018) indica que son heterótrofas definiéndolas como incapaces para generar su propia materia orgánica y de acuerdo de acuerdo con Fajardo y Sarmiento (2007) son tolerables en altas concentraciones de azúcar.

Adicionalmente, durante la producción de la fermentación de una proteína unicelular (SCP) la levadura *Saccharomyces exiguus* puede ser utilizada como agente biológico en la alimentación animal y/o humanas, posee excelentes características fisiológicas para desarrollarse en ácido acético, es tolerante al pH ácido, responde rápidamente a la adición de tiamina, niacina, biotina y ácido pantoténico del extracto de levadura, por no presentar fase de latencia lo cual incrementa su rendimiento de biomasa en el menor tiempo de fermentación (Saldaña y Zapata, 2017).

De modo similar la levadura *Candida utilis* es un microorganismo de importancia industrial. Esta levadura se ha utilizado como fuente de nutrientes a través de la producción a gran escala de proteínas unicelulares. Por lo tanto, se puede esperar que *C. utilis* produzca una gran cantidad de pigmentos carotenoides al dirigir el flujo de carbono para la biosíntesis de ergosterol a una nueva vía para la síntesis de carotenoides a través de FPP a través de la introducción de los genes carotenogénicos de Erwinia.

Por último, se describe la producción de licopeno por una cepa recombinante de *C. utilis* (Miura *et al*., 1998). Adicionalmente, las levaduras *C. utilis* y de *S. cerevisiae* son utilizadas como aditivos alimentarios según la Food and Drug Administration (FDA).

En consecuencia, el objetivo de la presente investigación consistió en evaluar el efecto de la adición de tres tipos de levaduras comerciales en disolución de melaza durante la producción de Etanol.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad

Laica Eloy Alfaro de Manabí. Las etapas de la investigación consistieron en la activación de levadura y fermentación de las mismas.

Para ello se utilizó tres tipos de levaduras comerciales las cuales se detallan a continuación:

- Levadura activa seca Levapan y su nombre científico *Saccharomyces cerevisiae*,
- Levadura salvaje saf – instant y su nombre científico *Saccharomyces exiguus*
- Levadura con su nombre comercial *Candida utilis ATCC9950*.

Se determinó la producción de etanol más óptima del experimento, con diferentes concentraciones de sacarosa (19°Bx, 23°Bx y 27°Bx) y diferentes condiciones ambientales (27°C, 30°C y 33°C).

Activación de las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*)

Para la activación de las levaduras se procedió a la preparación de un jarabe el cual consta de 25 g de melaza, 0,5 g de urea, 1 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae*; todo esto en un recipiente estéril, se aforó hasta 500 ml de agua destilada; se mezcló hasta obtener la solución completamente homogénea. Seguidamente se dejó reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos, se adaptó el aireador al envase por un lapso de 24 horas para realizar el proceso de oxigenación y posterior activación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Este mismo proceso se lo realizó con las levaduras: *Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*.

Fermentación de las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*)

Para la fermentación se utilizó melaza de caña de azúcar con el nombre comercial Super Melaza la cual consta de una concentración de sólidos a 85°Bx, por lo que se realizó un balance de materia para determinar cuántos gramos de agua destilada se debe añadir para preparar los mostos hasta obtener concentraciones de 19°Bx, 23°Bx y 27°Bx.

Como fermentadores o biorreactores se utilizaron envases con tapas de 1000 ml de capacidad que fueron esterilizados previamente a fin de evitar la contaminación y el desarrollo de otro tipo de microorganismos que alteren el proceso de obtención de alcohol.

Para el primer grupo de tratamientos de acuerdo a un balance de materia se añadió en tres recipientes diferentes 250 g de melaza y en cada uno se completó con 750 g de agua destilada, a continuación, se verificó los sólidos solubles por refractometría, como indica la norma Association of Official Analytical Chemists (AOAC 932.14, 1990), obteniendo un valor de 19° Bx, posteriormente se lo lleva a temperatura de 27° C, 30°C y 33°C; asimismo para el segundo grupo de tratamiento, en tres envases diferentes se añadió 250 g de melaza y de forma individual se completó con 600 g de agua destilada, se verificó los sólidos solubles obteniendo un valor de 23°Bx, posteriormente se llevó a temperatura de 27° C, 30°C y 33°C; y finalmente para el tercer grupo de tratamiento se procedió a pesar en tres envases diferentes 250 g de melaza y se completó con 450 g de agua destilada, se verificó los sólidos solubles obteniendo un valor de 27°Bx, y por consiguiente se llevó a temperatura de 27° C, 30°C y 33°C

En cada uno de los envases con mosto de melaza se inoculó de forma individual 5 ml de las levaduras activadas (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*), se cerró herméticamente cada envase, colocando mangueras conectadas desde el frasco a un vaso con agua con el objetivo de permitir la salida de CO2 generado durante la fermentación.

Los mostos de melaza se dejaron fermentar durante tres semanas en condiciones anaerobias.

Proceso de destilación

Transcurrido el tiempo estimado de fermentación se procedió con el proceso de destilación, este se realizó con el objetivo de obtener el rendimiento de la producción de etanol de cada grupo de tratamientos.

Se realizó una destilación simple tomando como referencia la norma INEN 340-2014, a un rango de temperatura desde 78 a 96 °C para eliminar la presencia de alcoholes superiores, este proceso tardó alrededor de 3 a 4 hrs.

Diseño experimental

Se aplicó un modelo estadístico de diseño cuadrado latino utilizando el programa Microsoft Excel, el cual permite agrupar los resultados del experimento.

Factor de interés: Tipos de levaduras

Letra latina:

Tipos de levaduras
A = *S. cerevisiae*
B = *S. exiguus*
C = *C. utilis*

Factores secundarios:

1.-Concentración de Sacarosa (°Bx)
2.-Temperatura del ambiente (°C)

De esta forma se obtendrán 9 tratamientos como se observa en el Cuadro 1. de diseño experimental; de los cuales se podrá determinar el tratamiento con la mayor producción de etanol como se aprecia en el Cuadro 2.

REVISTA ESPAMCIENCIA

Cuadro 1. Diseño experimental

°Bx	Temperaturas		
	27°C	30°C	33°C
19	C	B	A
23	A	C	B
27	B	A	C

Cuadro 2. Producción de etanol por cada tratamiento.

Trat.	°Bx	°C	Levaduras	Volumen (ml)
T1	19	27	*C. utilis*	93,07
T2	19	30	*S. cerevisiae*	91,68
T3	19	33	*S. exiguus*	94,92
T4	23	27	*S. cerevisiae*	85,75
T5	23	30	*C. utilis*	84,98
T6	23	33	*S. exiguus*	85,37
T7	27	27	*S. exiguus*	97,98
T8	27	30	*S. cerevisiae*	98,92
T9	27	33	*C. utilis*	97,66

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Gráfico 1, se muestra el comportamiento durante las pruebas experimentales para la obtención de etanol expresado en (ml). Evidenciando que el mejor tratamiento es el T8, con 27 °Bx y 30°C utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, esto se debe a que esta levadura tiene alto potencial metabólico (Sánchez *et al*., 2012); y coincidiendo con las temperaturas óptimas para producción de etanol de 32±2°C establecidas por Mukhtar, *et al*. (2010).

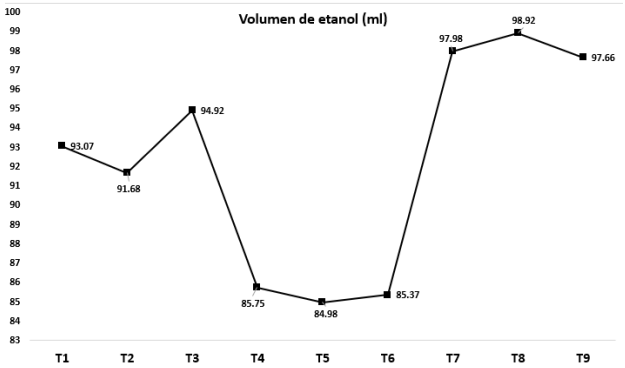

Gráfico 1. Producción de etanol por cada tratamiento.

En el Cuadro 3. Con respecto a la producción de etanol se evidencia que no existe diferencia significativa entre los tres tipos de levaduras y temperaturas de almacenamiento ($p>0.05$), sin embargo, existe diferencia significativa entre °Bx ($p<0.05$), lo que concuerda con Macías (2015).

Cuadro 3. Análisis de varianza (ANOVA).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F Calculada	F Tabla	Significancia
Tratamientos (Tipos de levaduras)	4,03	2	2,02	2,75	19	p>0,05
Renglones (°Bx)	250,71	2	125,36	170,85	19	p<0,05
Columnas (°T)	0,94	2	0,47	0,64	19	p>0,05
Error	1,47	2	0,73			
Total	257,15	8				

CONCLUSIONES

La aplicación del diseño experimental cuadrado latino permitió establecer las condiciones óptimas de operación generando mayor producción de etanol en el T8 utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con temperatura de 30°C y 27°bx.

El análisis de varianza indicó que no existen diferencias significativas entre los tipos de levaduras utilizadas en este experimento y las diferentes condiciones de temperatura; sin embargo, se evidencia diferencia significativa en los niveles de °Bx aplicados.

LITERATURA CITADA

Angulo, A. 2010. Efectividad de microorganismos nativos en relación a *Aspergillus niger*, *Clostridium thermocellum* ATCC 27405 y *Zymomonas mobilis* para la producción de bioetanol a partir de residuos de sandía *citrullus lanatus* a escala piloto. (Tesis pregrado). Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí. Recuperado el 14 de octubre de 2019.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Solids in Syrups - Official Method 932.14. Recuperado el 31 de mayo de 2019, de http://members.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC_Docs/OMA/OMA_932.14_Revised_3-16-17.pdf.

Argote, F., Cuervo, R., Osorio, E., Delgado, J., & Villada, H. 2015. Evaluación de la producción de etanol a partir de melaza con cepas nativas *Saccharomyces cerevisiae*. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 13(2), 40-48. doi:10.18684/BSAA(13)40-48

Brooks, A. 2008. Ethanol production potential of local yeast strains isolated from ripe banana peels. African Journal of Biotechnology, 7(20), 3749-3752. Recuperado el 10 de 08 de 2019, de http://www.academicjournals.org/AJB

Chimbo, F., & Vega, J. 2015. Efecto de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y la temperatura en la obtención de etanol a partir de caña de azúcar (*Saccharun officinarum l.*), en la Universidad Estatal de Bolívar. (Tesis pregrado). Universidad Estatal de Bolívar. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Guaranda. Recuperado el 13 de octubre de 2019, de http://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/854/1/023.pdf.

Diario El Comercio. 2018. La venta de etanol para elaboración de la gasolina ecopaís. Recuperado el 2 de octubre de 2019, de https://www.elcomercio.com/actualidad/venta-etanol-elaboracion-gasolina-ecopais.html.

Diario El telégrafo. 2019. La industria producirá 560.000 t de azúcar. Recuperado el 10 de octubre de 2019, de https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/4/azucar-ingeniovaldez-sancarlos.

Elizalde, M. 2015. Mejoramiento de la rentabilidad con diversificación de subproductos de la caña de azúcar en Chaguarpamba Loja. (Tesis pregrado). Universidad Técnica de Machala, Machala. Retrieved octubre 2, 2020, from http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/1983.

Fajardo, E., & Sarmiento, S. 2007. Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. (Tesis pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Recuperado el 6 de octubre de 2019, de https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis26.pdf.

González, A., Del Angel, J., González, J., Rodríguez, N., & Bustos, G. 2017. Evaluation of producing ethanol native yeasts present in sugar cane bagasse. CienciaUAT, 2(2):80-92.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). NTE INEN 340. 2014. *Bebidas alcoholicas. Determinación del grado alcoholico*. Recuperado el 30 de septiembre de 2020, de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/340pdf.

Intriago, G., & Sabando, T. 2017. Aprovechamiento del residuo del bagazo de la caña de azúcar (*shaccharum officinarum*), para la obtención de alcohol, sitio agua fría, Junín. (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López", Calceta. Retrieved octubre 2, 2020, from http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/674.

Macías, J. 2015. Aplicación de un diseño experimental en la producción de alcohol etílico en la melaza de caña de azúcar en los procesos artesanales en la ciudad de Manta. (Tesis pregrado). Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta. Recuperado el 6 de octubre de 2019, de http://repositorio.uleam.edu.ec/handle/123456789/514.

Miura, Y., Kondo, K., Shimada, H., Saito, T., Nakamura, K., & Misawa, N. 1998. Production of lycopene by the food yeast, *Candida utilis* that does not naturally synthesize carotenoid. Biotechnology and bioengineering, 58(2-3):306-308.

Mukhtar, K., Asgher, M., Afghan, F., Hussain, K., & Zia-ul-Hussnain, S. 2010. Comparative study on two commercial strains of *Saccharomyces cerevisiae* for optimum ethanol production on industrial scale. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 1-5.

Nandy, S., & Srivastava, R. 2018. A review on sustainable yeast biotechnological processes and applications. Microbiological research, 207:83-90. doi:doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.013.

Saldaña, J., &s Zapata, E. 2017. Obtención de Proteína Unicelular (SCP) a partir de Ácido Acético por *Saccharomyces exiguus*. Revista de Investigación y Desarrollo, 3(9):1-10.

Sánchez, A., Gutiérrez, A., Muñoz, J., & Rivera, C. 2010. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. Revista Tumbaga, 1(5): 61-91.

Sánchez, L., Otiniano, M., Arellano, J., Chávez, M., Robles, H., & Lescano, L. 2012. Efecto del complejo enzimático producido *por Aspergillus oryzae* sobre producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*. Sciéndo, 15(2):1-12.

Suárez, C., Garrido, N., & Guevara, C. 2016. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar, 50(1): 20-28.

Shurson, G. 2018. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. Animal feed science and technology, 235:60-76. doi:doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.010.

REVISTA ESPAMCIENCIA
para el agro

ELABORACIÓN DE HELADO CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LECHE DE SOYA (*Glycine max*)

ICE CREAM PROCESSING WITH DIFFERENT CONCENTRATIONS OF SOY MILK (*Glycine max*)

Silvia Liseth Palma-Santana, Jennifer Paulina Espinoza Zambrano, Luis Eduardo Flores-Holguín, Kathya Sayonara Reyna-Arias

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. Av. Circunvalación - Vía a San Mateo, Manta – Manabí – Ecuador

Email: kathya.reyna@uleam.edu.ec

Información del articulo

Tipo de artículo:
Artículo original

Recibido:
02/06/2020

Aceptado:
28/12/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista ESPAMCIENCIA
11(2):120-130

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.199

Resumen

La leche de soya proviene de una leguminosa rica en proteínas y constituye una materia prima con alto valor nutricional en alimentos procesados. En el presente estudio se utilizó la leche de soya para elaborar helados en diferentes dosis: 20%, 40% 60% y 80%, almacenado a una temperatura de -15°C por un período de 30 días. Se determinó las características físico-químicas, sensoriales y microbianas de los helados elaborados a base de leche de soya. El análisis sensorial con 16 voluntarios seleccionó el helado con 20% de leche de soya como mejor tratamiento, obteniendo como resultado en los días de estudios 1, 10, 20 y 30, un pH de 5,22, solidos solubles de 30 °Brix y en cuanto a la acidez titulable de 0,40 %, y un contenido aceptable en proteínas del 2,05%, materia grasa 2,78%, sólidos totales 28,5 % y de carbohidratos 29,17 %. Los análisis microbianos en mohos fueron de <1x10 UFC/g, levaduras 2,95 Log 10 UFC/g, coliformes totales 1,95 Log 10 UFC/g, recuentos aerobios 3,54 Log 10 UFC/g. El costo del mejor tratamiento de helado a base de leche de soya es de $1,14 dólares por litro.

Palabras clave: Helado, soya, nutricional, proteínas, alimento.

Abstract

Soy milk comes from a protein-rich legume and is a raw material with high nutritional value in processed foods. In this study, soy milk was used to make ice cream in different doses: 20%, 40% 60% and 80%, stored at a temperature of -15°C for a period of 30 days. The physical-chemical, sensory and microbial characteristics of ice cream made from soy milk were determined. The sensory analysis with 16 volunteers selected the ice cream with 20% of soy milk as the best treatment, obtaining as a result in the days of studies 1, 10, 20 and 30, a pH of 5.22, soluble solids of 30 °Brix and in terms of titratable acidity of 0.40%, and an acceptable content in protein of 2.05%, fat 2.78%, total solids 28.5% and carbohydrates 29.17%. Microbial analyses on moulds were <1x10 CFU/g, yeasts 2.95 Log 10 CFU/g, total coliforms 1.95 Log 10 CFU/g, aerobic counts 3.54 Log 10 CFU/g. The cost of the best soy milk based ice cream treatment is $1.14 per litre.

Keywords: Ice cream, soy, nutritional, protein, food

INTRODUCCIÓN

El Ecuador es un país que cuenta con diversidad de frutas, hortalizas, leguminosas, debido a las buenas condiciones climáticas (Miranda *et al.,* 2019), razón por la cual se ubica en un lugar de privilegio para el sector agroindustrial, actividad que reúne las condiciones para convertirse en uno de los ejes de desarrollo social y de gran aporte para nuestra economía.

Farías (2017) menciona que es una necesidad descubrir nuevas fuentes nutricionales para las regiones donde la variedad y cantidad de alimento son inadecuadas, esto ha hecho necesario desarrollar técnicas y procesos que permitan utilizar los recursos disponibles para producir alimentos altamente proteicos. Donde muchos productores emplean leche de soya para la creación de nuevos productos alimenticios.

La leche de soya cobra un papel muy importante en la nutrición de los consumidores, siendo una opción para adquirir proteínas y otros nutrientes. Además, es una alternativa de consumo para la población adulta de países como Asia, Europa y América Latina que son intolerantes a la lactosa (Benítez, 2006).

Salazar (2012) indica que la leche de soya es uno de los mayores aliados si se requiere enriquecer la alimentación y evitar problemas de salud. Esta se elabora de una proteína vegetal de gran calidad nutritiva que a la vez es buena fuente de proteínas también presente en la leche de vaca, huevos, carne y pescado; se la obtiene del remojo, trituración, cocción y filtrado de las semillas de soya (Tripathi y Misra, 2005).

Sin embargo, Tobar (2008), menciona que la leche de soya elaborada industrialmente tiene mayor contenido de grasa y menos contenido proteico, mientras que la leche de soya artesanal es más nutritiva y económica, para los consumidores pues obtienen un ahorro del 30-40% por cada litro de soya.

Para Constante (2012) el método más apropiado de conservación de la leche y yogurt de soya es el uso de benzoato de sodio al 0,5%, el cual no afecta a las características nutritivas, logrando en la leche un periodo de vida útil de 15 días y en el yogurt un periodo de 30 días, inhibiendo en este periodo el crecimiento de la mayoría de los microorganismos.

En efecto, Gómez (2011), demostró la gran aceptación de la leche de soya por parte de los consumidores pudiendo incorporar productos nuevos en el mercado que cumplan las expectativas de los clientes.

El objetivo principal de este estudio fue elaborar helados con diferentes dosificaciones de leche de soya y determinar el mejor tratamiento como alternativa de desarrollo comercial del medio, reduciendo grasa y mejorando la calidad proteica en su composición, beneficiando a los consumidores M'Boumba *et al* (2009), con una buena fuente de fósforo, potasio, vitaminas del Grupo B, zinc, hierro y la vitamina E (Benítez 2006), además es la única legumbre que contiene los diez aminoácidos esenciales en la proporción correcta para la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en los laboratorios de Procesos Agroindustriales de la Facultad Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicado en la ciudad de Manta, Av. Circunvalación -Vía a San Mateo, Manta-Manabí- Ecuador.

Proceso de elaboración de los helados a base de leche de soya

Se empleó moras frescas para saborizar el helado, las mismas que fueron acondicionadas para posteriormente obtener la pulpa del fruto, utilizando una licuadora marca Black & Decker MOD. BLM10350MN y un colador para retener los residuos de semillas presentes en la fruta. La pulpa fue pasteurizada a 85°C por 10 min; para destruir los microorganismos patógenos presentes y por último se dejó enfriar a temperatura de 5°C.

Para la obtención de la leche de soya se realizó una recepción, pesado, selección y limpieza de los granos.

Posteriormente se preparó los granos de soya remojándolos en agua a 10°C, usando tres veces el peso del grano, en un tiempo de 10 horas; transcurrido este tiempo se escaldó el grano remojado a una temperatura entre los 95 a 100ºC por 5 minutos, teniendo como objetivo desactivar la enzima lipoxigenasa.

La molienda del grano se realizó con agua a 45ºC en una licuadora, en la misma proporción peso/volumen (1 libra de soya/1 litro de agua). Después de licuar los granos de soya, se procedió a la pasteurización de la leche a una temperatura de 75ºC por 15 minutos y por último un enfriamiento a temperatura de 5°C.

Proceso de elaboración

Para la elaboración de las diferentes formulaciones experimentales se siguió el proceso detallado en la figura1.

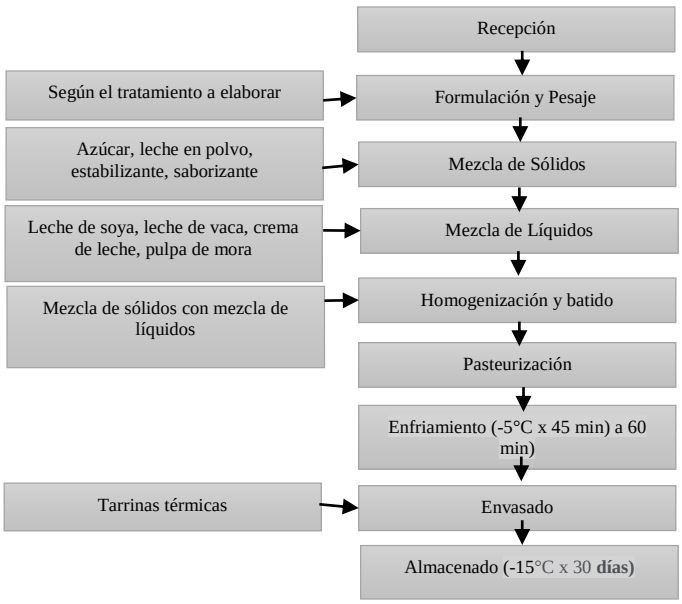

Figura 1. Flujograma del proceso de elaboración de los helados a base de leche soya

Para la elaboración de los helados a base de soya se realizó la recepción de todos los ingredientes a utilizar en la preparación de la mezcla, luego se seleccionó los insumos, y se procedió al pesado de los mismos de acuerdo a la formulación, en una balanza analítica ADAM (max 250 g= 0,0001 g). En esta etapa se procedió a homogenizar todos los ingredientes sólidos (azúcar, leche en polvo, saborizante, estabilizante) en 2 min y los ingredientes líquidos (leche de soya, leche de vaca, pulpa de mora, crema de leche, etc.), agitándose hasta obtener una consistencia homogénea, mezclando los ingredientes sólidos y líquidos con agitación constante para evitar la formación de grumos durante 6 minutos. Se usó una batidora de mano de 240W 5 velocidades 2499013000 Oster.

Las porciones de ingredientes empleados en la elaboración de los helados a base de soya se indican en el cuadro 1.

Cuadro 1. Formulaciones de los tratamientos

Formulación		80% leche de soya y 20% leche de vaca (LS1V)	60% leche de soya y 40% leche de vaca (LS2V)	40% leche de soya y 60% leche de vaca (LS3V)	20 % leche de soya y 80% leche de vaca (LS4V)
Ingredientes	**Ud.**	**Peso**	**Peso**	**Peso**	**Peso**
Leche de soya	ml	1500	1250	750	500
Leche de vaca	ml	500	750	1250	1500
Leche evaporada	ml	100	100	100	100
Crema de leche	ml	200	200	200	200
Pulpa de mora	ml	500	500	500	500
Saborizante de mora	g	4,7	4,7	4,7	4,7
Azúcar	g	1000	1000	1000	1000
Leche en polvo	g	60	60	60	60
Estabilizante Homogel	g	7	7	7	7

Luego se procedió a pasteurizar hasta alcanzar una temperatura de 80°C en 5 minutos, el cual se incorporó la mezcla de los helados, a la máquina heladera Soft TAYLOR, en un tiempo de 45 min a 60 min, dependiendo el porcentaje de leche de soya que contenga la mezcla, el envasado se lo realizó en tarrinas y se almacenó a una temperatura de -15°C por 30 días.

Caracterización sensorial de los helados

Como primera etapa del estudio, se evaluaron características sensoriales de los helados a base de soya con 30 jueces voluntarios no entrenados, con base en la metodología indicada por Chacón *et al.* (2016), para los voluntarios calificadores con una escala hedónica de 4 puntos en la cual indicaron cuánto les gustó el helado, donde 1 es menos agradable y 5 más agradable, sin conocer previamente la composición del mismo.

Caracterización físico-químico y microbiológico

Se realizó muestras por triplicado de los helados determinando el contenido de pH, grados Brix (°Brix), acidez titulable, solidos solubles, sobre aumentó overrum, solidos totales, contenido de grasa método AOAC 954, proteína con técnica kjeldahl y carbohidratos totales método del fenol-sufúrico, con base en los métodos establecidos en las diferentes Normas Ecuatorianas (NTE INEN 0014 (1984), ISO 3728 (2004), NTE INEN 0706 (2005), NTE INEN 0016 (1984)). Los grados Brix se midieron con un refractómetro modelo 140-117-556 de Vimael S.A.

Con las muestras obtenidas se realizó análisis microbiológicos para cuantificación en placas Petrifilm de unidades Log-UFC/g (Logaritmo-Unidades formadoras de colonias/ gramos) de mohos, levaduras, coliformes totales y aerobios con base en metodología y criterios establecidos en Normas Ecuatoriana, para garantizar la inocuidad de los helados elaborados a base de soya (NTE INEN 1 529-11 (1998), ISO 6611 (2004), NTE INEN 1 529-7 (2013), ISO 4832 (2006), NTE INEN 1529-5 (2006), ISO 4833-1 (2013)).

Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos de las diferentes caracterizaciones nutricionales se analizaron con una prueba de comparación de medias por tukey ($p \leq 0,05$) con el programa InfoStat 2016 versión 11.17. Los datos obtenidos en el análisis sensorial se presentan en gráfica como lo indica Chacón *et al.* (2016).

Análisis económico o estimación económica

El costo de tratamiento se determinó sumando todos los gastos generados en la producción de las muestras en estudio. Logrando así obtener el valor de gasto en la elaboración de cada tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización sensorial de los helados a base de soya de los tratamientos

En cuanto al análisis organoléptico en la Gráfico 1, se observan los resultados brindados por los panelistas donde indica que existió una mejor aceptación y calificación hacia el tratamiento LS4V (20% de soya y el 80% de leche de vaca), que en los otros tratamientos, con un número de aceptación de 16 panelistas, siguiendo el tratamiento LS3V (40% de soya y el 60% de leche de vaca), con la aceptación de 7 panelistas, sucesivamente el tratamiento LS1V (80% de soya y el 20% de leche de vaca), con la aceptación de 4 panelistas y como el menos agradable se encontró el tratamiento LS2V (60% de soya y el 40% de leche de vaca), con la aceptación de 3 panelistas. En el análisis estadístico se determinó que si hay diferencia significativa entre los tratamientos.

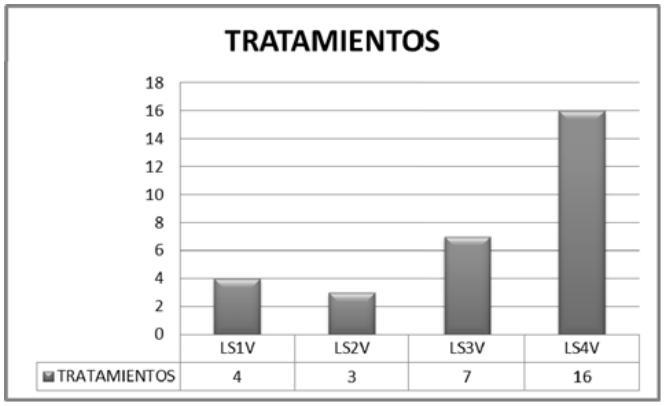

Gráfico 1. Análisis sensorial de los helados a base de leche de soya en un grupo de 30 jueces de panelistas no entrenados.

Según Ávalos (2018) en la práctica, un análisis organoléptico es una prueba de degustación o cata para determinar la calidad del producto. Correlaciona con Sancho *et al*. (1999) que la valoración sensorial es una función que la persona realiza desde la infancia y que la lleva, consciente o inconscientemente, a aceptar o rechazar los alimentos de acuerdo con las sensaciones experimentadas al observarlos o ingerirlos.

Al analizar los datos estadísticos de los análisis de evaluación sensorial, se puede certificar que los jueces detectaron diferencia significativa entre los tratamientos, escogiendo al tratamiento LS4V como el más preferido, deduciendo que, mientras mayor porcentaje de leche de soya presenta el helado, los jueces detectaban más el sabor de legumbre.

Caracterización físico-químico de todos los tratamientos

Se realizó análisis de pH, °Brix, y acidez a cada uno de los tratamientos el primer día de almacenamiento a una temperatura de -15°C, antes de ser evaluados sensorialmente.

pH

En el gráfico 3 se observa el resultado promedio de los valores del pH de los diferentes tratamientos de helado con relación a las diferentes dosis de leche de soya y leche de vaca, en lo cual se determinó que el promedio mayor es el tratamiento LS1V (80% leche de soya y 20% leche de vaca) con un resultado de 5,07 y los promedios menores de los tratamientos LS3V (40% leche de soya y 60% leche de vaca) y LS4V (20% leche de soya y 80% leche de vaca) con un promedio de 5,05.

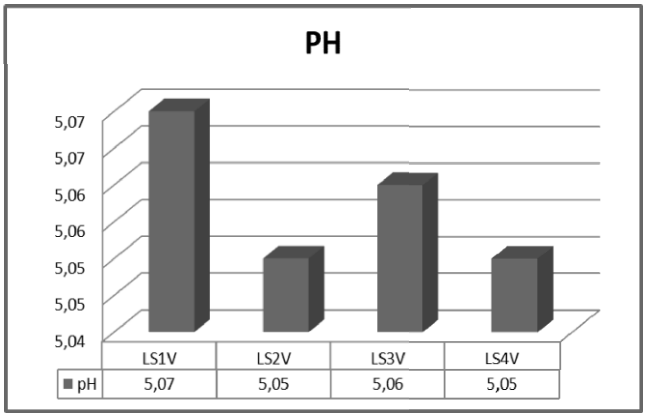

Gráfico 2. pH de las diferentes formulaciones de helados a base de leche de soya.

Al respecto el pH es un análisis importante de realizar ya que sirve como un indicador del estado general del producto, debido a que tiene influencia en múltiples procesos de alteración y estabilidad de los alimentos, así como la proliferación de microorganismos González (2011). Además, el pH de una mezcla de helado es generalmente de 5,4 a 7 aproximadamente Villalobos (2016), Sharma *et al* (2009). Como el pH es un factor primordial, se requiere obtener un tratamiento que mantenga el helado a base de leche de soya con un pH moderado, por lo cual todos los tratamientos cumplen con los valores que requiere la mezcla.

Grados °brix

Se determinó que el promedio mayor es el tratamiento LS4V (20% leche de soya y 80% leche de vaca) con un promedio 31,67 y el promedio menor es el tratamiento LS1V (80% leche de soya y 20% leche de vaca) con un promedio 29,67.

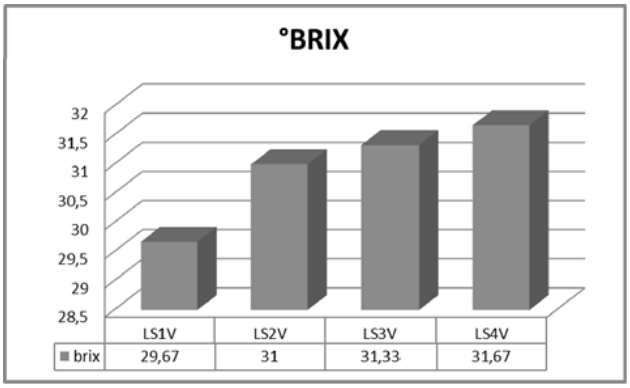

Gráfico 3. ° Brix de las diferentes formulaciones de helados a base de leche de soya.

Con este análisis se determinó el contenido de sólidos solubles presentes en los diversos tratamientos del helado. Estrada (2019) indica que los °brix en los alimentos radica en la formulación, la cantidad de azúcar (sacarosa) presente en el producto, el cual da el sabor y cuerpo al helado. Obviamente el valor se puede regular agregando azúcar al producto. Por lo mencionado es importante conocer su contenido de dulzor ya que este influye directamente en las características organolépticas lo cual se determinó que el promedio mayor es el tratamiento LS4V (20% leche de soya y 80% leche de vaca) con un promedio 31,67 y el promedio menor es el tratamiento LS1V (80% leche de soya y 20% leche de vaca) con un promedio 29,67. A diferencia de Cajas (2019) que presento valor de 8.025 °Brix en la mezcla de leche de soya con garbanzos siendo el contenido con más azúcar en la leche de soya.

Acidez titulable

En el análisis estadístico se determinó que si hay diferencia significativa entre los tratamientos LS4V (20% leche de soya y 80% leche de vaca) con el LS2V(60% leche de soya y 40% leche de vaca), entre los tratamientos LS4V (20% leche de soya y 80% leche de vaca) con el LS1V(80% leche de soya y 20% leche de vaca), entre los tratamientos LS3V (40% leche de soya y 60% leche de vaca) con el LS2V(60% leche de soya y 40% leche de vaca), entre los tratamientos LS3V (40% leche de soya y 60% leche de vaca) con el LS1V(80% leche de soya y 20% leche de vaca) y entre los tratamientos LS2V (60% leche de soya y 40% leche de vaca) con el tratamiento LS1V (80% leche de soya y 20% leche de vaca). Sin embargo, no hay diferencia significativa entre los tratamientos LS4V (20% leche de soya y 80% leche de vaca) con el tratamiento LS3V (40% leche de soya y 60% leche de vaca).

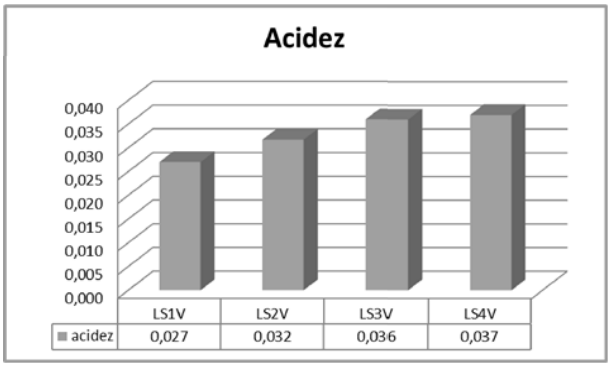

Gráfico 4. Acidez de las diferentes formulaciones de helados a base de leche de soya.

Se determinó la variable acidez para identificar los cambios producidos por diversos ingredientes como pulpa de mora, leche de soya y leche de vaca, crema de leche, etc. Además, Chacón *et al.* (2016) Mencionan que existe una interacción significativa entre el tipo de leche del helado siendo la interacción la combinación de los dos tipos de leche, que presentan características ácidas o alcalinas, y cuáles resultan neutros, ya que el balance ácido-alcalino del cuerpo es crítico para una buena salud. Ofreciendo un producto que favorezca a una dieta alimenticia sana para el organismo, a diferencia de lo que reporta Meza (2011) en la leche de soya con porcentaje alto de pH 0.437% debido a la combinación de los dos tipos de leche.

Indica Di Bartolo (2005), que el agregado de aire al helado es de una importancia fundamental para definir la calidad de un helado: Pues un agregado excesivo de aire dará un helado de baja calidad, sin cuerpo, deshaciéndose en la boca, dejando una leve sensación. Por el contrario, un helado con poco aire incorporado da una sensación pesada, muy fuerte que tampoco es deseable. Por lo descrito es importante la cantidad de aire que se le incorpora al helado porque si se obtiene un adecuado nivel de aire en la mezcla se logra obtener un buen coste de fabricación y ofrecer un producto de calidad al consumidor, en cuanto a lo que expresa Estrada (2019) en que el aumento del volumen del helado es debido al ingreso de aire en la mezcla, generando el efecto de la materia grasa y sólidos no lácteos.

Se consideró en el estudio la variable de sobreaumento en todos los tratamientos para identificar si el producto es rentable (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores de Sobreaumento del helado elaborado a base de leche de soya

Porcentaje de sobreaumento del helado a base de leche de soya y leche de vaca					
Tratamientos	**Litros de jarabe**	**Litros obtenidos**	**Porcentaje de overrum**	**Porcentaje de mezcla**	**Porcentaje de aire**
LS1V	4	4.5	11%	94,45%	**5,55%**
LS2V	4	6	33%	83,33%	**16,67%**
LS3V	4	6.7	40,29%	79,85%	**20,15%**
LS4V	4	7	42,86%	78,57%	**21,43%**

Elección del mejor tratamiento

Una vez obtenido el mejor tratamiento mediante análisis sensorial y análisis físicos; se procedió a realizar los análisis físico-químicos, y microbiológicos al tratamiento LS4V (20% leche de soya +80% leche de vaca).

Cuadro 3. Resultados del mejor tratamiento

Parámetros	Resultados
pH	5,05
Acidez	0,037
Grados°Brix	31,67
Porcentaje de Sobreaumento	42,86%
Análisis Sensorial	16 panelistas

No hay diferencia estadística significativa entre los tratamientos ya que los promedios indicaron que no hay un pH elevado a 6 ni inferior a 5 entre los diversos helados a base de leche de soya, así mismo, no hay un elevado porcentaje de solidos solubles entre ellas, sin embargo, hay una pequeña diferencia matemática en decimales.

Análisis físico-químico del mejor tratamiento

Se realizó análisis físico-químico al mejor tratamiento LS4V (20% leche de soya +80% leche de vaca) en los días 1, 10, 20 y 30 de almacenamiento.

pH

Como se observa en el gráfico 5, obteniendo como pH inicial al primer día de estudio un valor de 5,05; a los diez días 5, 08; a los veinte días 5,21 y culminando a los treinta días un pH de 5,22. Esto quiere decir que con el pasar de los días su pH se volvía neutro, siendo un medio propenso para el crecimiento de los microorganismos, ya que ellos crecen con un pH entre 5 y 8.

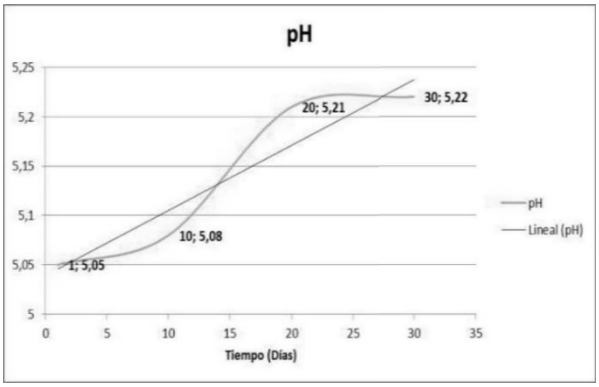

Gráfico 5. Resultados de pH del mejor tratamiento LS4V en los días de almacenamiento.

Menciona Chavarrías (2013), que los principales factores que afectan al crecimiento bacteriano son el tiempo, la temperatura, los nutrientes, el agua y el pH. Siendo el pH la medida de acidez o alcalinidad de un alimento, un factor que es determinante para controlar el crecimiento bacteriano. Correlaciona Chavarrías (2010) que el pH de los alimentos es utilizado como un parámetro de calidad muy importante, ya que está íntimamente ligado con las características organolépticas, por lo que siempre debe ser evaluado debido a que suele registrar aumento en los días de estudios. Es por ello que se realizó un análisis de pH al mejor tratamiento LS4V (20% Leche de soya+80% leche de vaca), realizados cada 10 días durante el lapso de un mes. Por otro lado, Yépez (2015) menciona que el pH de una mezcla los helados deben tener valores de pH cercanos a 6.3 aproximadamente, por lo que la determinación de pH se convirtió en un parámetro fundamental estando dentro de los parámetros, ya que los valores de pH no controlados promueven el crecimiento bacteriano y de hongo, provocando grandes infecciones gastrointestinales en el consumidor y también la reducción del tiempo de vida útil de producto, ya que provoca desestabilización química en el mismo.

Solidos solubles (°Brix)

En el gráfico 6. Los datos de los °Brix del tratamiento LS4V (20 % de leche de soya y 80% leche de vaca), fueron medidos cada diez días de almacenamiento a una temperatura de -15°C por un período de un mes. Dando como resultado e inicial 32°Brix, a los 10 días de estudio 31°brix, a los 20 días 30°brix y finalmente al mes de su almacenamiento se mantuvo con 30 °Brix.

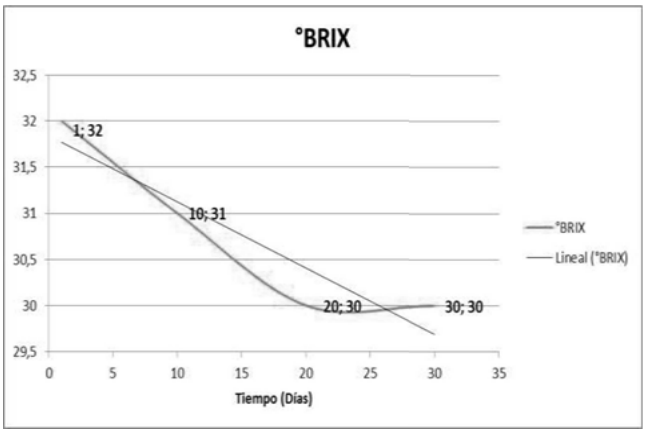

Gráfico 6. Grados °Brix del mejor tratamiento LS4V en los días de almacenamiento.

Según Amado (2010) los °Brix se generan por los azúcares de la leche, ayudando en la cristalización del helado obteniendo 16 °brix siendo este resultado menor a lo obtenido en el presente proyecto, en cuanto a lo que manifiesta Salazar y Zambrano (2015) obtuvieron 43- 52 °Brix el cual se encuentra por encima a lo obtenido debido a la gran concentración generada por la temperatura sometida.

Acidez titulable

En el gráfico 7 los resultados de acidez del helado de soya fueron medidos cada diez días después de su elaboración y almacenados a una temperatura de -15°C por un tiempo de treinta días. Dando como resultado al día 1 fue de 0,036 almacenamiento, seguido al día 10 de 0,038; al día 20 de estudio es de 0,039 y al día 30 de estudio es de 0,40. Estos resultados fueron calculados mediante el % de ácido láctico.

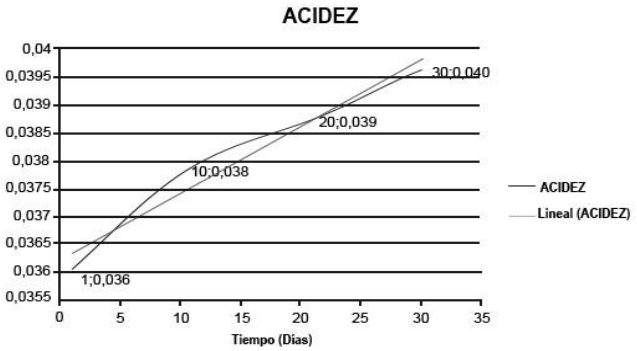

Gráfico 7. Resultados de acidez del mejor tratamiento LS4V en los días de almacenamiento.

La acidez obtenida en el tratamiento LS4V (20 % de leche de soya y 80% leche de vaca está por encima de lo permitido, de acuerdo a lo que indica la NTE INEN 0706 (2005) que la acidez óptima para el helado es de 0,25% y por lo tanto menciona Bejarano y Silva (2010) que la acidez determina el estado de conservación de un producto alimenticio. Un proceso de descomposición por hidrólisis, oxidación o fermentación, altera casi siempre la concentración hidrogeniónica.

Composición Química

En el cuadro 4 se observa los resultados de la composición química que se obtuvieron en el helado considerado como el mejor tratamiento. Obteniendo un porcentaje de 2,05 en proteínas, 2,78 en materia grasa, 28,50 de sólidos totales y un 29,17% de carbohidratos.

Cuadro 4. Resultados bromatológicos del mejor tratamiento LS4V

Análisis	Unidad	Resultados
Proteínas	%	2,05
Materia grasa	%	2,78
Solidos Totales	%	28,5
Carbohidratos	%	29,17

Mundo Heladero (2003), menciona que el helado juega un papel importante en la alimentación, desde el punto de vista nutricional, por ser un buen complemento en cualquier dieta alimenticia. Demostrando ser un producto de gran interés en persona que desean consumir un alimento que les ayude a nutrirlos sin tener que renunciar al placer de lo tradicional. Cumpliendo con lo establecido en las normas NTE INEN 0706 (2005) y presentando valores inferiores a los reflejados en la investigación de Rodríguez *et al.* (2010b).

Análisis microbiológicos

Para conocer la vida útil del producto, en cuanto a microorganismos, se realizó pruebas de mohos, levaduras, coliformes totales y recuento de mesófilos aerobios, durante los días 1, 15 y 30 de almacenamiento.

Análisis de mohos

Se realizó un estudio de análisis de mohos para determinar si existía crecimiento del mismo, donde los datos resultaron ser bajos. Indicando que no hubo alteración en el producto por parte de mohos. Cumpliendo con lo establecido en las normas NTE INEN 0706 (2005), donde se permite 200 UFC/g.

Cuadro 5. Resultado de análisis de mohos del mejor tratamiento LS4V en almacenamiento.

Análisis	Día 1	Día 15	Día 30
Mohos	<1x10 UfC/g	<1x10 UfC/g	<1x10 UfC/g

Según Chavarrias (2013) el moho produce uno de los cambios más visibles en la descomposición de alimentos y, por otro lado, March (2018) indica que el crecimiento de moho en los alimentos muestra que un producto ya no es apto para el consumo humano, es casi imposible que una persona normal pueda distinguir entre los tipos inofensivos y los que son peligrosos para la salud. Es por esta razón que se debe evitar comer alimentos con moho, sobre todo si se encuentra en un alimento blando.

Análisis de levaduras

En el análisis realizado al mejor tratamiento se encontró que en el día 1 de almacenamiento existió una cantidad de 3,00 Log 10 UFC/g; transcurrido el tiempo al día 15 mostro 2,90 Log 10 UFC/g y terminando su periodo de estudio a los 30 días de almacenamiento varío a 2,95 Log 10 UFC/g. Estos valores dieron a comprobar que la cantidad de levadura presente en el helado fue muy elevada, la cual pudo afectarse por la presencia de pulpa de mora.

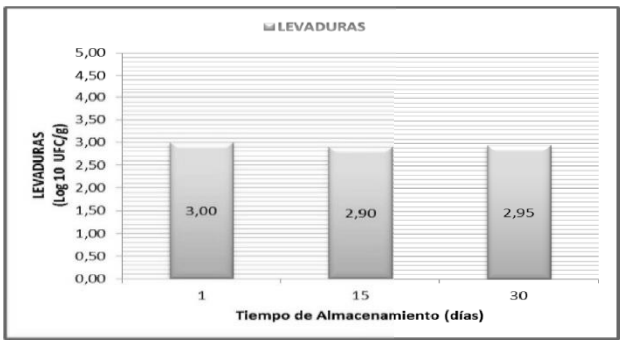

Gráfico 8. Resultado de análisis de levadura en UFC/g transformados a Log 10 UFC/g del mejor tratamiento LS4V en almacenamiento.

Con estos resultados se determinó que la cantidad de levadura está por encima de lo establecido en la NTE INEN 0706 (2005). Pérez y Jiménez (2011) indica que las levaduras son microorganismos capaces de colonizar variados ambientes ricos en compuestos de carbono.

Análisis de coliforme totales

En el gráfico 9 se observa el resultado de los análisis de coliformes totales de la muestra del mejor tratamiento. Estos resultados fueron dados en UFC/g y transformados a Log 10 UFC/g. Estos datos descienden con el transcurso del período de almacenamiento, que al día 1 tuvo una cantidad de 2,04 Log 10 UFC/g, al día 15 bajo a 2,00 Log 10 UFC/g y culminando el día 30 de estudio se obtuvo un valor de 1,95 Log 10 UFC/g.

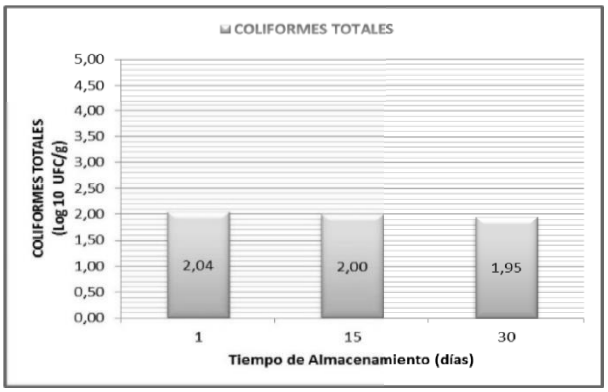

Gráfico 9. Resultados de análisis de coliformes totales del mejor tratamiento LS4V en los días de almacenamiento.

Estos resultados se encuentran dentro de la NTE INEN 0706 (2005) los cuales son aceptados. Señala Rosales y Díaz (2006) que los coliformes constituyen un grupo bacteriano heterogéneo, con especies de origen intestinal y no intestinal y menciona Ávila y Silva (2010) que las bacterias coliformes son utilizadas como parámetro indicador de la calidad higiénico-sanitaria en productos procesados, los cuales se destruyen fácilmente por el calor y pueden morir por congelación de almacenamiento, presentando el mismo caso de ausencia, en la investigación de Goma, *et al* (2017).

Recuentos aerobios

Los análisis microbiológicos de recuentos aerobios se efectuaron los días 1,15 y 30 de almacenamiento para comprobar la existencia y cantidad microbiana presente en el mismo y su variación en el transcurso del tiempo. Como dato inicial al día 1 se presentó con 3,60 Log 10 UFC/g; pero al día 15 disminuyo la cantidad de mesófilos aerobios a 2,30 Log 10 UFC/g, esto se debe por la falta de oxígeno y como último resultado al día 30 se obtuvo 3,54 Log 10 UFC/g.

Ramírez (2011) indica que la falta de crecimiento de los mesófilos aerobios a temperaturas bajas es por la reducción de la velocidad de las reacciones bioquímicas y al cambio de estado de los lípidos de la membrana celular que pasan de ser fluidos a cristalinos impidiendo el funcionamiento de la membrana celular en los días 1, y 15 a diferencia del día 30 que se encontró dentro de los parámetros por lo establecido en la NTE INEN 0706 (2005).

Análisis económico

Se llevó a cabo el análisis de costo al mejor tratamiento LS4V (80% leche de vaca+ 20% leche de soya), el cual fue elegido por medio de análisis sensorial. El rendimiento que se obtuvo en este tratamiento fue de 7 litros de helado con leche de soya con una cantidad de 4 litros de mezcla.

Los precios y cantidad requerida para la elaboración del helado se detallan a continuación en el cuadro 5, donde se determinó que el costo de este tratamiento es de 7,98, y el valor por cada litro obtenido es de $1,14.

Cuadro 5. Costos de elaboración de helado a base de soya por tarrina de 7 litros.

Ingredientes	Unidad	Costo unitarios	Cantidad utilizada	Precio
Leche de soya	L	2,00	0,5	**1,00**
Leche de vaca	L	1,30	1,5	**1,95**
Leche evaporada	ml	0,0054	100	**0,54**
Crema de leche	L	4,60	0,2	**0,92**
Pulpa de mora	L	2,00	0,5	**1,00**
Saborizante	gr	0,003	4,7	**0,01**
Azúcar	Kg	2,00	1	**2,00**
Leche en polvo	Gr	0,008	60	**0,48**
Estabilizante	Gr	0,012	7	**0,08**
Costo Total				**$7,98**

CONCLUSIONES

El tratamiento LS4V (20% leche de soya+80% leche de vaca) presentó mayor aceptación en el análisis sensorial y parámetros de análisis físico-químicos aceptables de acuerdo a las Normas NTE INEN 0706 vigentes en la calidad del helado, además fue el más rentable, con un costo de producción de $1,14 dólares por litro, proporcionando al productor más rentabilidad y al consumidor un helado más barato y nutritivo. Resulta necesario evaluar el posible efecto benéfico a la salud, para poder considerarlo como alimento funcional.

LITERATURA CITADA

Amado, E. 2010. Formulación y evaluación sensorial del helado de maracuyá elaborado con leche de soya. Tesis

de grado. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Departamento de ciencia y tecnología de alimentos. Buenavista-Mexico. 1-41.

Ávalos, R. 2018. Evaluación de dos emulsificantes y tres proporciones de mezclas de helado y yogur en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de helado de yogur sabor café. Tesis de grado. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano-Honduras. 1-24.

Ávila, V. & Silva, M. 2010. Evaluación de la calidad microbiológica de los helados elaborados en una empresa del municipio Soacha y su impacto a nivel local. Tesis de grado. Pontifica Universidad Javeriana. Facultad De Ciencias. Bogotá-Colombia. 16-101.

Bejarano, A., & Silva, A. 2010. Estabilidad del helado de crema de leche. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica Litoral. Instituto De Tecnologías. Guayaquil-Ecuador. 1-34.

Benítez, J. 2006. Estudio de la soya, derivados, efectos en la alimentación y propuesta gastronómica. Tesis de Grado. Universidad Tecnológica Equinoccial. Facultad: Ciencias Sociales y Comunicación. Quito-Ecuador. 1-95.

Cajas, J.2019. "Evaluación de las características de bebidas de *Glycine max* (SOYA), Cicerarietinum (garbanzo) con la adición de Aloe Barbadensis Miller (sábila) como alternativa nutricional". Tesis de grado. Universidad Técnica Estatal De Quevedo. Facultad De Ciencias De La Ingeniería. Los ríos-Ecuador. 1-75.

Chacón, V. A, Pinela, C. M. & Jiménez, G. C. 2016. Características fisicoquímicas y sensoriales de helados de leche caprina y bovina con grasa vegetal. Agron. MesoamVol. 27 (1) 19-36.

Chavarrías, M. 2010. Determinación del tiempo de la vida útil de la leche de soya mediante un estudio de tiempo real. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica Del Litoral. Programa De Especialización De Tecnología En Alimentos. Guayaquil-Ecuador. 1-53.

Chavarrías, M. 2013. pH de los alimentos y la seguridad alimentaria. Fundación eroski. Eroski consumer. 1-2.

Constante, P. 2012. "Elaboración y conservación de leche y yogurt de soya utilizando métodos combinados en la planta de lácteos de la Universidad Estatal De Bolívar" Tesis de grado. Universidad Estatal De Bolívar. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente. Guaranda-Ecuador. 4-87.

Di Bartolo, E. 2005. Guía para la elaboración de helados. Scrib.https://es.scribd.com/document/169578158/Guia-Para-La-Elaboracion-d-Helados. 1-57.

Estrada, M. 2019. Desarrollo a escala laboratorio de un helado deslactosado con evaluación de sus características sensoriales, nutricionales y microbiológicas. Tesis de maestría. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería. Guatemala. 1-64.

Farías, D. 2017. "Plan de negocios para la creación de "nutrí-soya" emprendimiento para la comercialización de helados a base de leche de soya en la cdla. La garzota en la ciudad de Guayaquil". Tesis de grado. Instituto Superior Tecnológico Sudamericano (TECSU) De Guayaquil. Guayaquil-Ecuador. 1-68.

Goma, M. SH.;Abdel-Aziz, M. E.;Abdel-Salam, A. 2017. Effect of total and partial replacing the Milk Powder Used in the Made of Ice Cream by the Whey Protein Concentrate and Soy flour on Product Quality. Journal of Food (10) 8. 395-400.

Gómez, F. 2011. "Investigación del Tofu y elaboración de nuevas alternativas gastronómicas en la repostería". Tesis de grado. Universidad Tecnológica Equinoccial Facultad De Turismo Y Preservación Ambiental, Hotelería Y Gastronomía. Quito-Ecuador. 1-152.

González, J. 2011. "Elaboración y evaluación nutricional de una de bebida proteica a base de lactosuero y chocho (*Lupinus mutabillis*) como suplemente alimenticio". Escuela superior politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Riobamba-Ecuador. 1-89.

ISO 3728. 2004. Norma internacional. Milk and milk products. Determinación de solidos totales.

ISO 4832. 2006. Norma internacional. Microbiología de alimentos y alimentos para alimentación de animales - método horizontal para la enumeración de coliformes - técnica de conteo de colonias.

ISO 4833. 2003. Norma internacional. Milk and Milk Products. Recuento de microorganismos mesófilos.

ISO 6611. 2004. Norma internacional. Milk and milk products. Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or mould. Colony Count technique at 25 degree c.

March, A., Gonzáles, J. & Tabera, A. 2018. Evaluación de la calidad microbiológica de una planta elaboradora de helado industrial de Tandil. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Veterinarias – UNCPBA-. Buenos aires-Argentina. 1-42.

M'Boumba, A. Rodríguez, T., Cainejo, J. 2009. Formulación de un helado a partir de leche de soya. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. (2) 19 . 15-19

Meza, J. 2011. Proceso de elaboración de helados con leche de soya (*Glycine max* (L) merril) saborizado con pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*). Tesis de grado. Universidad Tecnica Estatal De Quevedo. Unidad De Estudios A Distancia-Modalidad Semipresencial. Los ríos-Ecuador. 1-66.

Miranda, C., Miranda, R., Pilamala, A., Molina, J., Cerda, L. 2019. El sector hortofrutícola de Ecuador: Principales características socio-productivas de la red agroalimentaria de la uvilla (*Physalis peruviana*). Ciencia y Agricultura. Colombia. 31-51.

Mundo Heladero. 2003. El helado como alimento. Vilbo Ediciones.1-5.

NTE INEN 0014. 1984. Normas Técnicas Ecuatorianas. Leche determinación de solidos totales y ceniza.

NTE INEN 0016. 1984. Normas Técnicas Ecuatorianas. Leche determinación de proteínas.

NTE INEN 0706. 2005. Normas Técnicas Ecuatorianas. Helados. Requisitos.

NTE INEN 1 529-11. 1998. Normas Técnicas Ecuatorianas. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la presencia o ausencia de mohos y levaduras (utilizando medio liquido).

NTE INEN 1529-5. 2006. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. REP.

NTE INEN 1529-7. 2013. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonia.

Pérez, N. & Jiménez, E. 2011. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. Rev. Biotecnología Vegetal. (4)11. 195.

Ramírez, O. 2011. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Tesis de grado. Universidad pública de Navarra. Navarra-España.

Rosales, Y., & Díaz, C. 2006. Evaluación De La Calidad Microbiológica De Helados Caseros En Merida/ Venezuela. Rev. Salud pública y nutrición. (3) 7.

Rodríguez, T., Camejo, J., M'Boumba, A., Roger, V. 2010a. Utilización de leche de soya en helado. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. (1) 20. 27-30.

Rodriguez, T. & Camejo, J. & Rodríguez, Aniely & Hombre, R. & Nuñez de Villavicencio, Margarita. 2010.b. Utilization of powdered soy milk in ice cream. Ciencia y Tecnología de Alimentos. 20. 27-30.

Salazar, C. 2012. "Plan de negocio para la sustentabilidad de un nuevo emprendimiento: productora y comercializadora de leche de soya" para la ciudad de quevedo, periodo 2012. Tesis de grado. Universidad Técnica Estatal De Quevedo. Facultad De Ciencias Empresariales. Quevedo-Ecuador. 1-104.

Salazar, J. & Zambrano, F. 2015. Tipo de edulcorante en la elaboración de manjar de soya y características sensoriales del producto. Tesis de grado. Universidad Laica Eloy Alfaro De Manabí Extensión Chone. Manabí-Ecuador.1-53.

Sancho, J., Bota, E., & De Castro, J. 1999. Introducción al. Barcelona: Edicions Universidad de Barcelona. 1-20.

Sharma, H.K. & Singh, Charanjiv & Sarkar, B.C. & A, Shitandi. 2009. Quality of soft-serve ice-cream prepared from incorporation of soy milk. Journal of Food Science and Technology. 46. 172-173.

Tripathi, A.K., Misra, A.K. 2005. Soybean A consummate functional food: A review. Journal of Food Science and Technology. (2)42. 111-119.

Tobar, D. 2008. Determinación y comparación de proteínas y grasas de la leche de soya, elaborada tanto artesanal como industrialmente, comercializada en el Departamento de Guatemala, Guatemala. Tesis de grado. Universidad De San Carlos De Guatemala Facultad De Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. 9-46.

Villalobos, A., Pineda, A., Jiménez C. 2016. Características físicoquímicas y sensoriales de helados de leche caprina y bovina con grasa vegetal. Agronomía Mesoamericana. Costa Rica. (27) 1.

Yépez, E. 2015. Utilización de suero lácteo en polvo en mezclas base para helados con pulpa de mora. Tesis de grado. Universidad tecnológica equinoccial. Facultad de ciencias de la ingeniería. Quito-Ecuador. 1-5